

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1923

THÈSE

POUR LE

N°
319

DOCTORAT DE MÉDECINE

PAR

Albert LABORDE-SCAR

Né à Neuilly-sur-Seine, le 27 Juillet 1878.

LE DOSAGE DES ALBUMINES

PAR LES

PROCÉDÉS NÉPHÉLÉMETRIQUES

Président : M. GILBERT, *Professeur*.

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE

1923

318

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1923

THÈSE

310
N°

POUR LE

DOCTORAT DE MÉDECINE

PAR

Albert LABORDE-SCAR

Né à Neuilly-sur-Seine, le 27 Juillet 1878.

LE DOSAGE DES ALBUMINES

PAR LES

PROCÉDÉS NÉPHÉLÉMETRIQUES

Président : M. GILBERT, Professeur.

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE

1923

Faculté de Médecine de Paris

LE DOYEN : M ROGER

PROFESSEURS : MM.

Anatomie.	NICOLAS
Anatomie médico-chirurgicale.	CUNEO.
Physiologie.	Ch. RICHET
Physique médicale.	André BROCA
Chimie organique et Chimie générale.	DESGREZ
Bactériologie.	BEZANCON
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.	BRUMPT
Pathologie et Thérapeutique générales.	Marcel LABBÉ
Pathologie médicale.	N.
Pathologie chirurgicale.	LECENE
Anatomie pathologique.	LETULLE
Histologie.	PRENANT
Pharmacologie et matière médicale.	RICHAUD
Thérapeutique.	CARNOT
Hygiène.	BERNARD
Médecine légale.	BALTHAZARD
Histoire de la médecine et de la chirurgie.	MENETRIER
Pathologie expérimentale et comparée.	ROGER
Clinique médicale.	{ ACHARD
	{ WIDAL
	{ GILBERT
	{ CHAUFFARD
Hygiène et clinique de la première enfance.	MARFAN
Clinique des maladies des enfants.	NOBECOURT
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	H. CLAUDE
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	JEANSELME
Clinique des maladies du système nerveux.	P. MARIE
Clinique des maladies contagieuses.	TEISSIER
Clinique chirurgicale.	{ DELBET
	{ LEJARS
	{ HARTMANN
	{ GOSSET
Clinique ophtalmologique.	DE LAPERSONNE
Clinique des maladies des voies urinaires.	LEGUEU
Clinique d'accouchements.	{ COUVELAIRE
	{ BRINDEAU
	{ JEANNIN
Clinique gynécologique.	J. L. FAURE
Clinique chirurgicale infantile.	Aug. BROCA
Clinique thérapeutique.	VAQUEZ
Clinique oto-rhino laryngologique.	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale.	DUVAL
Clinique propédeutique.	SERGENT

Agrégés en exercice

MM.			
ABRAMI	DESMAREST	LARDENNOIS	RATHERY
ALGLAVE	DUVOIR	LE LORIER	RETTETTER
BASSET	FIESSINGER	LEMIERRE	RIBIERRE
BAUDOUIN	GARNIER	LEQUEUX	ROUSSY
BLANCHETIÈRE	GOUGEROT	LEREBoullet	ROUVIERE
BRANCA	GREGOIRE	LERI	SCHWARTZ
CAMUS	GUENIOT	LEVY-SOLAL	TANON
CHAMPY	GUILLAIN	MATHIEU	TERRIEN
CHEVASSU	HEITZ-BOYER	METZGER	TIFFENEAU
CHIRAY	JOYEUX	MOCQUOT	VILLARET
CLERC	LABBÉ (Henri)	MULON	
DEBRE	LAIGNEL-LAVASTINE	OKINCZYC	
	LANGLOIS	PHILIBERT	

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.



J'adresse mes remerciements sincères

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR GILBERT

qui m'a accueilli dans son laboratoire de l'Hôtel-Dieu, et m'a longuement aidé par ses encouragements, ainsi qu'à mon ami et collaborateur M. LE DOCTEUR HENRI BÉNARD qui m'a inspiré l'idée de ce travail et a pris part à son développement.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR GILBERT

Membre de l'Académie de Médecine.

A MES MAÎTRES DANS LES HÔPITAUX DE PARIS

à la MÉMOIRE de :

M. le Docteur BOURCY ;

M. le Professeur LANDOUZY ;

M. le Professeur GILBERT-BALLET.

à Messieurs

le Docteur BAZY, membre de l'Institut ;

le Professeur BAR ;

le Professeur BRINDEAU ;

le Professeur agrégé LAIGNEL-LAVASTINE ;

à Messieurs

le Docteur BAUMGARTNER, chirurgien des hôpitaux ;

le Docteur EHRENPREIS ;

le Docteur Marcel DESCHAMPS.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A TOUS LES MIENS

LE DOSAGE DES ALBUMINES

PAR LES

PROCÉDÉS NÉPHÉLÉMÉTRIQUES

HISTORIQUE

Avant l'élaboration des méthodes néphélémétriques, les biologistes ont institué, à deux reprises différentes, des méthodes rapides de mesures optiques pour le dosage des albumines totales du sérum du sang.

Malgré la simplicité et la précision du dosage par coagulation et pesée, ils désiraient disposer d'un procédé qui les renseignât immédiatement avec un minimum de manipulations.

Dès 1849, A. Becquerel (1) avait mis à profit dans ce but le pouvoir rotatoire dont sont douées les solutions d'albumine. Utilisant un polarimètre (2) adapté à ce genre de mesures, il avait pu réunir des observations cliniques, que je rappelle seulement à cause de leur cachet d'ancienneté.

Il trouva que l'augmentation du taux des albumines était un phénomène assez rare qu'il observa cependant à la suite d'un traumatisme grave provoqué par une chute : la concentration des albumines aurait alors doublé.

Il vit le plus souvent diminuer le taux des albumines au cours des maladies aiguës, par exemple, et il imagina que la diète à laquelle était soumis le malade intervenait pour une part importante dans le mécanisme de cette modification.

(1) A. BECQUEREL, Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris. *Bulletin de la Société Médicale des Hôpitaux de Paris*, t. I, p. 50, Séance du 12 décembre 1849.

(2) *Gazette Médicale*, n° 48, 1849, *Archives*, t. XXII, 4^e série, p. 56.

Il étudia également et interpréta l'appauvrissement en albumine, du sérum des sujets atteints du mal de Bright.

Je ne sache pas que ce procédé de dosage, basé sur la mesure du pouvoir rotatoire, ait été utilisé, depuis lors, dans un but clinique.

*
* *

Récemment, de 1900 à 1913, différents auteurs ont dosé les albumines du sérum du sang par des mesures d'indice de réfraction.

Les travaux les plus typiques conduits dans ce sens sont ceux de Emile Reiss (1), Eugène Vaucher (2), François Saint-Girons (3), T. Brailsford Robertson (4).

E. Reiss étudia le procédé et le mit au point. — E. Vaucher étudia par cette méthode l'hydrémie des brightiques et des œdémateux. — E. Saint-Girons put suivre les variations cycliques des albumines au cours des maladies infectieuses.

T. Brailsford Robertson appliqua la méthode au dosage de différentes albumines séparées chimiquement et mit en évidence l'influence du jeûne et de l'inanition sur le rapport des globulines aux sérines chez des animaux carnivores et herbivores (le rat blanc et le lapin).

Une bibliographie très étendue se trouve dans ces publications ; je ne crois pas devoir la répéter ici.

*
* *

Les mesures du pouvoir rotatoire ou d'indice de réfraction s'adressent aux propriétés optiques des albumines dissoutes.

(1) EMILE REISS, Der Brechnungskoeffizient des Blutserums als Indikator für den Eiweissgehalt. *Thèse de Strasbourg*, 1902.

(2) EUGÈNE VAUCHER, L'hydrémie des brightiques et des cardiaques œdémateux. *Thèse Paris*, 1911.

(3) FRANÇOIS SAINT-GIRONS, Les albumines du sérum sanguin au cours des maladies infectieuses ; leurs variations cycliques. *Thèse Paris*, 1913.

(4) T. BRAILSFORD ROBERTSON, Studies in the blood relationship of animals as displayed in the composition of the serum proteins. A comparison of the sera of the horse, rabbit, rat and ox, with respect to their content of various proteins in the normal and in the fasting conditions. *The Journal of biological Chemistry*, vol. XIII, Baltimore 1912-1913, p. 325 à 340.

Si l'on précipite par un réactif convenable une solution diluée d'albumine, on obtient un milieu trouble, capable d'absorber et de diffuser la lumière, et l'étude de ces propriétés permet d'évaluer les quantités plus ou moins grandes d'albumine précipitée.

C'est vers l'année 1904 qu'ont été construits les premiers appareils destinés à faire des comparaisons précises entre milieux troubles, en chimie biologique.

RICHARDS et WELLS (1), de 1904, ont cherché à évaluer les différences des concentrations de deux suspensions, en comparant entre elles les intensités de lumière qu'elles diffusent en vertu du phénomène étudié par TYNDALL (2) en 1868, puis par STRUTT (Lord Rayleigh) (3) dès 1871.

KOBER (4) en 1912, KLEINMANN (5) en 1919, BAUDOUIN et H. BÉNARD (6) en 1920, SHEPPARD et ELLIOT (7) en 1921 ont fait construire des diffusimètres appliqués au dosage des chlorures (8), des phosphates (9), de l'albumine des liquides organiques (10), des graisses du sérum sanguin (11) du calcium dans le sérum sanguin (12), des corps acétoniques (13).

Je ne décrirai, parmi ces appareils, que celui dont je me suis servi pour mes expériences : celui de A. BAUDOUIN et H. BÉNARD.

(1) RICHARDS et WELLS, *Chem. Journal*, 1904, t. XXXI, p. 235.

(2) TYNDALL, *Proc. Roy. Soc.*, t. XVII, p. 92, 222, 317, 1868; t. II, 4^e, p. 741.

(3) LORD RAYLEIGH, *Phil. Mag.* (5), 47, p. 375, 1899; 49, p. 324, 1900. — STRUTT (LORD RAYLEIGH), *Phil. Mag.* (4) 41, p. 107, 274, 447, 1871; (5) 12, p. 81, 1881.

(4) PHILIP ADOLPH KOBER, Nephelometry in the study of proteases and nucleases. *The Journal of biol. Chem.* vol. XIII, 1912-1913, p. 485 à 498; *The Journal of the American Chemical Society*, vol. XXXV, n^o 3, mars 1913, p. 290 à 292.

(5) H. KLEINMANN, Allgemeine Principien der Nephelometrie und Construction eines neuen Nephelometers. *Biochemische Zeitsch.*, 99, 1919.

(6) A. BAUDOUIN et H. BÉNARD, Un nouvel instrument; microcolorimètre et néphélomètre. *C. R. Soc. Biol.*, 1^{er} mai 1920.

(7) SHEPPARD et ELLIOTT, *The Journal of the American Chemical Soc.*, 1921, 43, p. 531.

(8) RICHARDS et WELLS, *Loc. cit.*. — LAMB, CARLTON et MELDRUM, *Journal of the Amer. Chem. Soc.*, février 1920. — H. KLEINMANN, *Biochemische Zeitschrift*, p. 99, 115, 1919.

(9) POUGET et CHOUCHACK, *Bull. Soc. Chem.*, p. 5, 405, 1909. — H. KLEINMANN, *loc. cit.*

(10) OTTO FOLIN et W. DENIS, The quantitative determination of albumin in urine. *The Journal of Biological Chemistry*, vol. XIII, Baltimore, 1914, p. 273.

(11) BLOOR, *Journal of biol. Chem.*, p. 17, 377, 1914.

(12) LYMAN, *Journal of biol. Chem.*, p. 17, 377, 1914.

(13) FOLIN et DENIS, *Journal of biol. Chem.*, p. 18, 263, 1914.

La description et la critique des autres instruments a déjà été faite soit dans la thèse de YVONNE BÉNARD-RAYNEAU (1), soit dans les publications de A. BAUDOUIN et H. BÉNARD (2).

Ces auteurs ont proposé de désigner d'une façon très générale, sous le nom de « *néphélémétrie* » les méthodes de mesure, quelles qu'elles soient, qui s'appliquent à l'étude des milieux troubles. Ils distinguent ainsi la « *diffusimétrie* », dans laquelle se classent les appareils mentionnés ci-dessus, et l'« *opacimétrie* » (appelée parfois « *diaphanométrie* ») qui consiste à mesurer la lumière transmise par les milieux troubles dans la direction de la lumière incidente.

* *

Des « opacimètres » ont été construits par différents auteurs. Le lactoscope de DONNÉ (3) (1837), l'hématoscope d'HÉNOQUE observent l'opacité d'un milieu; le microphotomètre de BUISSON et FABRY (1912) destiné à comparer des opacités de noircissements photographiques; le microphotomètre de FRANTZ-HARTMANN et l'opacimètre intégrateur de BAILLAUD conçus dans le but de recherches astronomiques par l'intermédiaire de la photographie; les travaux de O. BLOCH et F.-F. RENWICK sur l'opacité surfacique des émulsions d'argent des plaques photographiques (4); l'opacimètre de VLÈS, de WATTEVILLE et LAMBERT (5) qui dosent les émulsions bactériennes par opacimétrie; le

(1) YVONNE BÉNARD RAYNEAU, La méthode ultra-photométrique (néphélémétrie); son application au dosage des petites quantités d'albumine. *Thèse Paris*, 1920.

(2) A. BAUDOUIN et H. BÉNARD, Considérations sur l'application des méthodes optiques à la Biologie. Un nouvel appareil (colorimètre, néphélémètre, spectroscopie différentiel). *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. IV, sept.-oct. 1922, p. 454 à 473.

(3) AD. WÜRTZ, *Dictionnaire de Chimie*, t. II, p. 196.

(4) *The Photographic Journal*, t. LVI, 1916, p. 49. Extrait de CH. CHÉNEVEAU et R. AUDUBERT, *Annales de Physique*, t. XIII, 1920, 9^e série, p. 151.

(5) VLÈS, *C. R. Acad. Sc.*, 1919, t. CLXVIII, p. 575 et 794; *C. R. Soc. Biol.*, 1919, p. 373.

VLÈS, DE WATTEVILLE et LAMBERT, *C. R. Acad. Sc.*, 1919, t. CLXVIII, p. 797. Décrit par J. BOYER dans *La Nature* (Masson édit.), 27 novembre 1920, p. 344 et 345.

VLÈS, Recherches sur les propriétés optiques des suspensions biologiques. *Arch. Phys. Biol.*, 1921, n° 6.

VLÈS, Les milieux troubles à gros éléments et l'opacimétrie bactérienne. *Société Française de Physique*, section de Strasbourg, *Bulletin* n° 176, novembre 1922.

pycnomètre photographique de A. ZIMMERN (1), etc., sont autant d'exemples qui montrent que l'opacité des milieux troubles a été l'objet de nombreux essais de mensuration.

Parmi tous ces instruments, je décrirai seulement par la suite, l'opacimètre de Ch. CHÉNEVEAU et R. AUDUBERT (2), dont je me suis servi pour mes expériences, ainsi que l'instrument de A. BAUDOUIN et H. BÉNARD qui peut être utilisé comme opacimètre.

(1) A. ZIMMERN, Sensitométrie radiographique, etc. *Bull. et Mém. de la Soc. Radiol. Méd. de France*, onzième année, n° 96, février 1923, p. 49 à 55.

(2) Ch. CHÉNEVEAU et R. AUDUBERT, Sur un néphélémètre. *Le Journal de Physique et le Radium*, t. II, série VI, n° 1, janvier 1921, p. 19 à 23.

CHAPITRE I

PRINCIPE DES MESURES. — APPAREILS

Les méthodes néphélométriques mettent en jeu un phénomène physique dont les lois ne sont pas simples.

Les substances albuminoïdes sont des composés dont la constitution et la nature sont mal connues, et cependant, les travaux de KOBER, DENIS et FOLIN, BAUDOUIN et BÉNARD donnent à penser qu'il est possible de mesurer avec précision la concentration d'une solution très diluée d'albumine par ces procédés optiques.

J'ai essayé d'étudier avec quelque détail les conditions requises pour que de tels dosages soient fidèles et précis, comparant à ce point de vue la diffusimétrie et l'opacimétrie.

Milieux troubles.

J'emprunterai textuellement les lignes suivantes au « Traité de Physique » de O. D. CHWOLSON (1), pensant qu'il est utile de rappeler succinctement dès le début les données acquises sur le phénomène mis en jeu dans les expériences qui seront relatées plus tard.

« On appelle *diffusion intérieure* des rayons, un phénomène qui se produit dans des milieux renfermant un très grand nombre de particules très petites, lesquelles diffusent plus ou moins, dans tous les sens, les rayons incidents. Notre atmosphère, par

(1) O.-D. CHWOLSON, t. II, f. 1, p. 129.

exemple, constitue un milieu de ce genre; la diffusion y est produite par une multitude de poussières très tenues et de petites gouttelettes ou bulles d'eau.

« La diffusion intérieure se manifeste nettement quand on regarde latéralement des rayons lumineux dans *un milieu trouble*; leur trajet est alors visible; on peut l'observer ainsi dans l'eau. La distillation et la filtration ne font pas disparaître les troubles de l'eau dûs aux poussières de l'air.

« SPRING (1899) est arrivé à obtenir de *l'eau optiquement pure* en ajoutant de l'eau de chaux et en agitant : le précipité entraînait avec lui toutes les particules produisant le trouble.

« Les sels de métaux alcalins et alcalins-terreux dissous ne produisent aucune diffusion intérieure; le contraire a lieu avec les sels d'Al, Cr, Fe, Cu, Hg et Pb et avec les colloïdes.

« BATTELLI et PANDOLFI ont également obtenu de l'eau et de l'alcool optiquement purs, en distillant ces liquides à l'abri de l'air.

« CLAUDIUS a admis que la grandeur de la diffusion dépend de la longueur d'onde λ .

« Plus tard, STRUTT (LORD RAYLEIGH) a trouvé que l'intensité de la diffusion croît rapidement quand λ diminue et qu'elle est est inversement proportionnelle à λ^3 ... Il s'ensuit que la diffusion des rayons violet et bleu foncé est plus grande que la diffusion des rayons rouges...

« Le verre opale présente un exemple typique de diffusion intérieure (1) ».

L'étude des petites particules a fait l'objet de nombreux travaux modernes : il faut rappeler, entre autres, les recherches remarquables de Jean PERRIN qui donna du mouvement brownien une interprétation si féconde.

En Biologie, le chapitre des colloïdes et de l'étude des phénomènes de floculation, de coagulation, prend chaque jour une extension plus grande.

J'ai réuni dans le tableau ci-contre une liste des différentes particules matérielles, en indiquant l'ordre de grandeur de

(1) O.-D. CHWOLSON, *Id.*, p. 439.

leurs diamètres, comparé aux longueurs d'onde électromagnétiques.

Ces données ont été recueillies dans *Les colloïdes* de Jacques DUCLAUX, dans *Les atomes* par Jean PERRIN et dans *Les Rayons X* de Maurice de BROGLIE, ainsi que dans le *Traité de Chimie-Physique* de M. LEWIS.

Les diamètres des particules des précipités d'albumine que nous avons étudiés variaient de 0,01 μ à 2 μ environ. Lors de la floculation et de la sédimentation, l'accolement de ces particules forme des groupements pouvant atteindre 10 μ et même davantage.

L'étude des propriétés optiques des milieux troubles a été reprise en 1920 par Ch. CHÉNEVEAU et R. AUDUBERT (1). Ces auteurs se laissèrent guider par l'intuition que les dimensions des particules et leur nombre étaient deux facteurs intimement liés dans leurs effets et que, par suite, c'était plutôt le volume des particules qui devait intervenir dans leurs propriétés optiques.

Quand la lumière traverse un milieu trouble, il y a lieu de considérer :

1° le rapport $\frac{I}{I_0}$ de l'intensité lumineuse transmise I à la lumière incidente I_0 .

2° Le rapport $\frac{I_0 - I}{I_0}$ de la lumière absorbée $I_0 - I$ à la lumière incidente I_0 .

$$\frac{I_0 - I}{I_0} = 1 - \frac{I}{I_0}$$

Cette absorption de la lumière n'est pas la même pour toutes les radiations, car elle est fonction de la longueur d'onde, créant de ce fait ce que l'on a dénommé : *dispersion par diffusion intérieure*.

C'est ainsi que la couleur bleue du ciel est la couleur d'un milieu trouble dans un éclairage latéral.

Les grains fins diffusent le bleu (petites longueurs d'onde) et

(1) CHARLES CHÉNEVEAU et RENÉ AUDUBERT, *Annales de Physique*, t. XIII, 9^e série, 1920, p. 134 à 161.

		ORDRE DE GRANDEUR DES DIMENSIONS	RAYONNEMENT ÉLECTROMAGNÉTIQUE			
		en centimètres.	en μ 1 $\mu = 0^{\text{e}} 0001$	Longueur d'onde en Angstroms 1 unité Å = + 0 μ , 001	Désignation.	Fréquence en nombre de vibrations par seconde.
		10^{-11}	0,0000001	0,001	Rayons γ du radium.	$3 \cdot 10^{21}$
		10^{-9}	0,00001	0,100	Rayons X durs.	$3 \cdot 10^{19}$
Dimensions atomiques.		10^{-8}	0,0001	1,0	Rayons X.	$3 \cdot 10^{18}$
Molécules	traversent filtres en collodion.	10^{-7}	0,001	10,0	Rayons X très doux.	$3 \cdot 10^{17}$
	ne traversent plus fil- tres en collodion.	2×10^{-7}	0,002	20		$\frac{3}{2} \cdot 10^{17}$
	lames minces de De- vaux, albumine d'œuf.	3×10^{-7}	0,003	30	Rayons de Holweck.	
Limite de l'ultramicroscope et de la centrifugation.		10^{-6}	0,010	100	Rayons de Holweck.	$3 \cdot 10^{16}$
Colloïdes d'Or, Ag, Pt, les plus gros coagulent.		6×10^{-6}	0,060	600	-	$\frac{3}{6} \cdot 10^{16}$
		10^{-5}	0,100	1.000	Ultra violet.	$3 \cdot 10^{15}$
Limite du microscope.		$2,5 \times 10^{-5}$	0,250	2.500	Ultra violet.	
Emulsions huileuses.		4×10^{-5}	0,400	4.000	Violet visible extrême.	
Réseaux de Rowland (Diffraction) 1/1.700 de mm.		6×10^{-5}	0,600	6.000	Lumière jaune	$5 \cdot 10^{14}$
		8×10^{-5}	0,800	8.000	Limite du spectre visible.	$3,75 \cdot 10^{14}$
Réseaux de Rutherford (Diffraction) 1/1.000 de mm.		10^{-4}	1,000	10.000	Infra rouge (début).	$3 \cdot 10^{14}$
Petits globules rouges.		2×10^{-4}	2,000	20.000	Infra rouge	
Gros globules rouges.		6×10^{-4}	6,000	60.000	Au delà du spectre solaire.	
Suspensions irrégulières : 1/100 de mm.		10^{-3}	10	100.000	Au delà du spectre solaire.	$3 \cdot 10^{13}$
3/100 de mm.		$3 \cdot 10^{-3}$	30		Au delà du spectre solaire. Infra rouge (fin).	10^{13}
1/10 de mm.		10^{-2}	100		Rayons restants de KI = 96 μ 7	$3 \cdot 10^{12}$
300 mètres.		$3 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^8$		Ondes électriques de 300 mètres.	10^6

- Voir *Recueil de constantes physiques de la Société fr. de physique*, notamment :
tableaux 36 et 37.

transmettent le rouge (grandes longueurs d'onde), tandis que les gros grains diffusent le rouge et transmettent le bleu.

Ce phénomène est vraisemblablement sous la dépendance de tous les phénomènes optiques : diffraction, réfraction, réflexion : la théorie générale doit en être extrêmement complexe.

Lord RAYLEIGH (1) avait établi une théorie célèbre sur le bleu du ciel en admettant que la lumière se *diffacte* sur des particules petites vis-à-vis de la longueur d'onde incidente. Dans ce cas, Lord RAYLEIGH a supposé que même les molécules agissent comme les poussières encore perceptibles au microscope (2).

D'après certaines expériences de Ch. CHÉNEVEAU et R. AUDUBERT, il paraît légitime de supposer que la *réflexion* joue un rôle important dans tous les phénomènes optiques présentés par les milieux troubles à grosses particules.

Opacimétrie.

Ch. CHÉNEVEAU et R. AUDUBERT, étudiant des milieux troubles non homogènes, ont remarqué que l'absorption est une fonction continue de la *masse totale* des grains lorsque le diamètre des particules varie de 0 μ . 1 à 12 μ .

La formule suivante exprime bien la loi de l'absorption :

$$1 - \frac{I}{I_0} = e^{-\frac{B}{M^{\frac{1}{\beta}}}}$$

e est la base des logarithmes népériens; $e = 2,71828...$

M est la *masse totale* des particules (ou la concentration des précipités étudiés).

B et β sont deux coefficients dépendant seulement de la nature des grains en suspension et de la longueur d'onde de la lumière utilisée.

Dans le cas d'un milieu trouble, le rapport $\frac{I}{I_0}$ est appelé par Ch. CHÉNEVEAU et R. AUDUBERT : le coefficient de transmission du mélange.

(1) STRUTT (LORD RAYLEIGH), *Philosophical Magazine*, février 1871.

(2) In JEAN PERRIN, *Les Atomes*, Félix Alcan édit., chapitre V.

avec la longueur d'onde dans le spectre visible. Ce dispositif avait déjà été employé dans certains appareils.

La théorie et l'expérience montrent que, dans ces conditions, si l'on représente graphiquement la loi suivant laquelle varie le déplacement du coin photométrique en fonction de la concentration, on obtient, comme courbe figurative, une droite. Il convient, par exemple, de porter en abscisses les valeurs de la concentration, et en ordonnées celles du déplacement du coin photométrique.

« L'appareil (1) comprend une source lumineuse intense S, constituée par exemple, par une lampe à incandescence (2), placée au foyer d'une lentille convergent L; le faisceau parallèle, issu de cette lentille, présente une répartition lumineuse homogène et, après avoir rencontré au besoin un verre dépoli tombe sur deux fenêtres circulaires d'égale dimension F, F', placées à la base d'un double prisme à réflexion totale P, P' (fig. 1). L'œil de l'observateur, abrité de la lumière parasite par un écran E peut alors comparer les éclairéments de ces deux fenêtres au moyen d'une lunette A, qui donne des images contiguës : en outre, l'oculaire de la lunette contient un écran coloré, ne laissant passer qu'une bande étroite du spectre.

« Devant la fenêtre F', est disposé un tube T, monté comme un tube de saccharimètre, contenant la suspension à étudier, et devant la fenêtre F se trouve un petit coin C de verre noir à teinte neutre, accolé à un prisme de verre blanc disposé en sens inverse de façon à éviter la déviation par réfraction. La lame ainsi formée peut se déplacer devant la fenêtre F; à cet effet, elle est portée par un cadre mobile qui glisse à l'intérieur d'un cadre fixe à l'aide d'une crémaillère et d'un pignon denté que l'observateur fait mouvoir en agissant sur le bouton molleté qui le termine (fig. 2).

« Le cadre mobile portant, par exemple, un index de repère, les déplacements sont mesurés sur une graduation fixe, disposée sur le cadre immobile.

(1) J'emprunte cette description à l'article du *Journal de Physique et le Radium*.

(2) J'emploie une lampe à verre dépoli uniforme dite lampe « Argenta ».

« Pour établir l'égalité des plages lumineuses que l'œil voit dans la lunette A, il suffit de déplacer convenablement le coin de verre à teinte neutre, jusqu'à ce que son épaisseur moyenne,

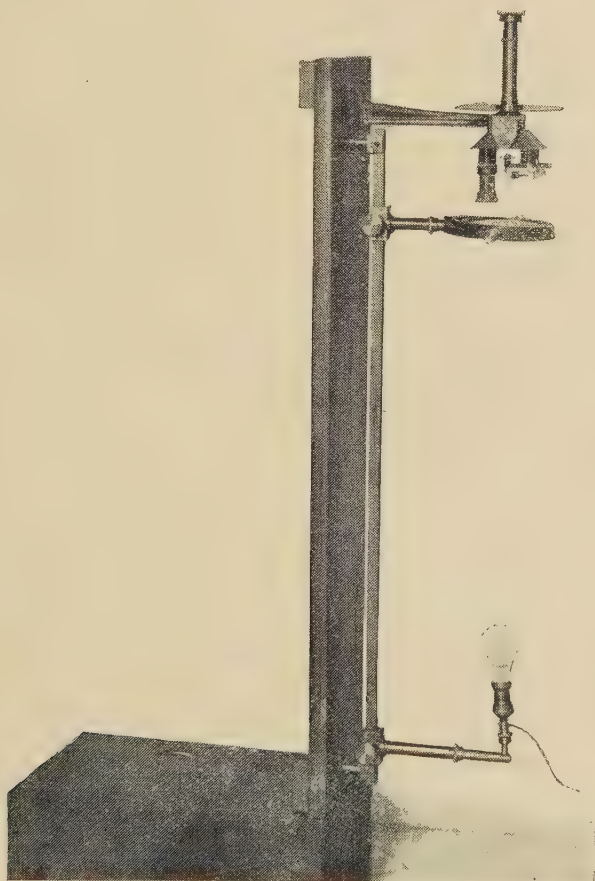


Fig. 2.

Néphélémètre de Ch. Chéneveau et R. Audubert.

ainsi traversée par la lumière, équilibre par son absorption celle du liquide à étudier ».

La courbe d'étalonnage devenant, dans ces conditions, une ligne droite, pourra être obtenue, disent les auteurs, au moyen de deux déterminations faites avec des émulsions titrées. La

lecture du déplacement donnera donc immédiatement le titre de l'émulsion si l'on se reporte à droite d'étalonnage.

*
* *

Nous verrons tout à l'heure comment A. BAUDOUIN et Henri BÉNARD ont modifié le colorimètre de DUBOSQ pour effectuer des comparaisons entre les intensités de *lumière diffusée* par des milieux troubles.

Ces auteurs ont montré que, sans modifications importantes, le colorimètre de DUBOSQ se prête à effectuer *des mesures opacimétriques*. Ils ont noté avec une grande netteté les conditions requises pour que cet emploi de l'appareil soit justifié.

1° Il faut opérer en lumière parallèle, sinon les différentes couches ne diffuseraient pas les rayons à un même degré et les comparaisons ne seraient plus possibles entre colonnes liquides de hauteurs différentes.

2° L'état des particules en suspension dans le liquide doit rester indépendant de la concentration.

La première de ces deux conditions est propre à l'instrument considéré, qui comporte des plongeurs limitant la hauteur du milieu absorbant. La seconde condition s'impose à tout type d'opacimètre, si la loi exprimée par Ch. CHÉNEVEAU et R. AUDUBERT est exacte. Il faut alors entendre par *l'état des particules* ce que ces auteurs appellent leur « *nature* », indépendamment de leurs dimensions. La nature des particules dépendra par exemple, entre autres facteurs, du pouvoir réflecteur de leur surface.

A. BAUDOUIN et H. BÉNARD ont adjoint à cet instrument un spectroscope à vision directe, muni d'une fente réglable mobile que l'on peut déplacer dans le plan du spectre et fixer à la longueur d'onde pour laquelle on désire faire les comparaisons. Ainsi complété, l'instrument de ces auteurs se prête aux mesures spectrocolorimétriques ou spectrophotométriques. Mais cela est en dehors de notre sujet.

Diffusimétrie.

Quand il s'agit de comparer entre eux, des milieux troubles, au moyen des intensités de la lumière qu'ils diffusent, les mesures sont d'une interprétation délicate.

Nous pourrions désigner sous le nom de « pouvoir diffuseur »

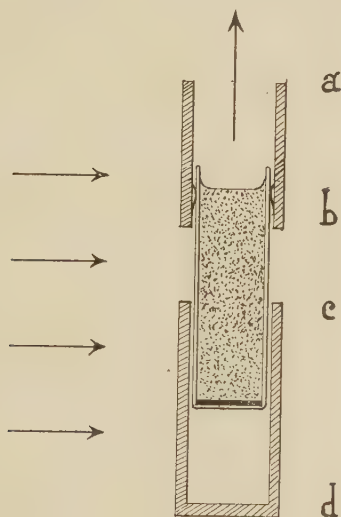


Fig. 3.

le rapport de l'intensité de la lumière diffusée à l'intensité de la lumière incidente, dans deux directions perpendiculaires et pour un élément de volume infiniment petit.

En effet, pour une suspension donnée, ce rapport dépend de la dimension de la surface éclairée et du volume illuminé dans le milieu trouble.

Le « pouvoir diffuseur » ainsi défini n'est pas directement mesurable.

On est conduit à régler avec précision les conditions de l'observation et à comparer dans un appareil déterminé les liquides étudiés.

A. BAUDOUIN et H. BÉNARD ont perfectionné dans le détail

l'adaptation que l'on peut faire (1) du colorimètre de DUBOSQ à ce genre de mesures.

Le schéma et la figure ci-contre (fig. 3 et 4) représentent cet appareil (2) dont j'indique succinctement le principe et la description empruntés soit à la thèse d'YVONNE BÉNARD-RAYNEAU (3), soit à l'article des auteurs (4).

Diffusimètre Baudouin et Bénard.

« Soit un tube de verre (fig. 3) placé verticalement et renfermant un liquide faiblement louche, telle qu'une solution colloïdale. Supposons que ce tube ait été engainé d'un manchon opaque, formé de deux pièces. La partie supérieure (*ab*) est fixe; l'inférieure (*cd*) est mobile et permet de découvrir plus ou moins le tube de verre. Supposons-le découvert comme l'indique la figure et éclairons-le par un faisceau de rayons parallèles et perpendiculaires à l'axe. Examinons le tube par en haut, suivant cet axe. La lumière rencontrant les petites particules de la solution, diffuse dans toutes les directions, en particulier dans celle du regard, si bien que la lumière du tube apparaît éclairée.

« On conçoit que, plus le nombre de particules sera considérable — c'est-à-dire plus la solution sera louche — plus la quantité de lumière diffusée sera grande et plus le tube paraîtra éclairé. De même si, pour une émulsion donnée, on abaisse le manchon mobile, la nouvelle tranche découverte diffusera une nouvelle quantité de lumière qui s'ajoutera à la première, suivant l'axe du tube, et la clarté de ce dernier se trouvera augmentée d'autant.

« L'expérience montre que, pour des émulsions formées de grains égaux, la quantité de lumière diffusée est proportion-

(1) RICHARD et WELLS, KOBER, *Loc. cit.*

(2) PELLIN à Paris, constructeur.

(3) *Thèse de Doctorat en Médecine. La méthode ultra-photométrique (néphélémétrie)*, Paris 1920.

(4) *Bull. Soc. Ch. Biol.*, t. IV, n° 8, sept.-oct. 1922.

nelle : d'une part, à la partie découverte sur le tube, d'autre part à la « densité » de l'émulsion, c'est-à-dire au nombre de grains par unité de volume ou bien, puisque ces grains sont répartis d'une façon homogène, à la masse de substance par unité de volume (concentration).

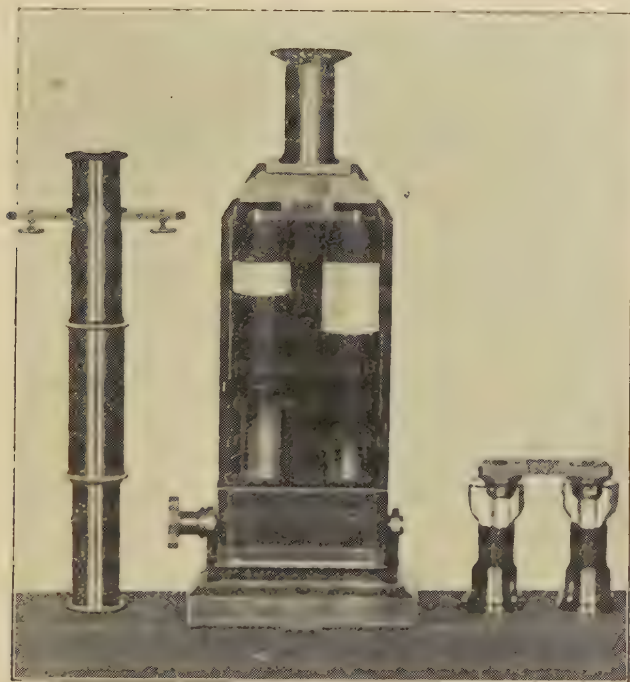


Fig. 4. — L'appareil monté comme diffusimètre. Le miroir n'est ici d'aucune utilité.

A droite, plongeurs et godets colorimétrique; à gauche, le spectroscopie.

« Dès lors, supposons deux tubes semblables, A et B placés parallèlement côte à côte, éclairés de la même manière par des rayons perpendiculaires à leur axe, renfermant deux émulsions de même nature et à grains égaux, mais de concentrations différentes. Si le tube A étant découvert d'une hauteur a , il faut, pour avoir égalité d'éclairage, découvrir le tube B d'une hauteur b , si C est la concentration (connue) de l'émulsion A et x la concentration (cherchée) de l'émulsion B, on a :

$$aC = bx \quad x = C \frac{a}{b}$$

« Il est bien entendu que, pour appliquer cette formule, on suppose implicitement, comme en opacimétrie, que l'état des particules dispersées reste indépendant de la concentration. L'expérience renseignera à ce sujet. Si la condition n'est pas remplie, on se reportera à un étalonnage pratiqué à l'avance ou bien l'on s'astreindra à ne comparer que des milieux de concentrations très voisines.

« Pour transformer le colorimètre en diffusimètre, on retire, par simple glissement, la pièce métallique portant les deux plongeurs du colorimètre et l'on fait glisser à sa place une seconde pièce portant deux manchons creux en cuivre de 21 millimètres de diamètre et 15 millimètres de hauteur. Ce manchon porte à son intérieur trois petits ressorts et peut ainsi recevoir et garder par frottement l'extrémité supérieure d'une petite éprouvette de verre mince à fond plat (1). L'extrémité inférieure de cette éprouvette déborde le manchon d'environ 3 centimètres et s'engage sans frottement dans un second manchon métallique haut de 30 millimètres. Ce second manchon, fermé à son extrémité inférieure, repose sur le chariot mobile de l'appareil, en place du godet colorimétrique. A zéro, les deux manchons supérieur et inférieur s'affleurent exactement et l'éprouvette est ainsi complètement masquée à la lumière. Lorsqu'on abaisse le chariot mobile, le manchon inférieur descend et seul découvre ainsi l'éprouvette sur une longueur qu'on lit directement sur l'échelle de l'appareil.

« Ce dispositif permet de pratiquer des mesures néphélémétriques sur de faibles quantités de liquide (10 centimètres cubes) (1), tout en laissant à l'éprouvette de verre un diamètre suffisant pour éliminer les perturbations que pourrait apporter le ménisque supérieur. Avec un diamètre de 20 millimètres, en effet, la partie centrale du ménisque est suffisamment plane pour qu'on puisse se dispenser de munir la pièce supérieure d'un

(1) Dans les 10 centimètres cubes, la quantité du liquide à examiner est généralement infime par rapport à la masse du réactif qui a provoqué la précipitation.

petit plongeur de verre. On supprime ainsi bien des manœuvres de nettoyage lors de mesures portant sur des liquides différents.

« L'extérieur et surtout l'intérieur des manchons sont recouverts d'un vernis noir mat pour s'opposer à toute réflexion de lumière. Pour éviter celles qui pourraient se produire sur le fond irrégulier des éprouvettes, on fait tomber dans celles-ci un petit disque de verre noir dépoli qui formera dès lors le fond optique du tube.

« Une condition essentielle pour pratiquer de bonnes mesures diffusimétriques est de disposer d'un éclairage puissant, uniforme et composé de rayons parallèles (1). »

Les auteurs ont fait construire un appareil d'éclairage en forme de lanterne qui réalise ces desiderata.

Étalon de diffusion.

Il était intéressant de rechercher un milieu trouble qui put servir d'étalon de diffusion.

MAURICE BABILLE, ingénieur de l'École de Physique et de Chimie, a pu réaliser du verre opale homogène, diffusant une teinte bleutée, et d'une opacité analogue à celle des précipités que je me proposais d'étudier.

H. BÉNARD et moi-même, nous avons fait tailler dans ce verre un petit cylindre ayant les dimensions intérieures de l'éprouvette du diffusimètre.

Placé par exemple à poste fixe, sur un disque de verre noir dans l'éprouvette de gauche, ce verre diffuseur constitue un bon étalon de diffusion pour l'étude des précipités d'albumine.

Indice de diffusion.

Nous verrons plus loin entre quelles limites la formule

$x = C \frac{a}{b}$ est utilisable avec l'appareil ci-dessus décrit.

(1) En réalité, l'expérience montre qu'en diffusimétrie la condition d'uniformité de la lumière est beaucoup plus importante que celle du parallélisme des rayons.

II. BÉNARD et moi-même (1) nous avons appelé arbitrairement *indice de diffusion* par rapport à l'appareil A. BAUDOUIN et H. BÉNARD, une valeur inversement proportionnelle à la hauteur H_x dont il faut découvrir le milieu trouble étudié de concentration x inconnue pour obtenir globalement une intensité lumineuse correspondant à celle fournie par l'Étalon diffuseur découvert sur une hauteur H_e , sans rien préjuger d'aucune interprétation mathématique.

L'indice de diffusion I_o d'un tel milieu sera mesuré par :

$$I_o = \frac{H_e}{H_x}$$

L'étalonnage du verre diffuseur pourra se faire en fonction de la concentration du milieu trouble étudié, en mesurant son indice de diffusion pour une concentration C_1 connue. Désignons par K la constante de concentration du verre étalon. Quand l'équilibre d'intensité est établi, on a :

$$K \times H_e = C_1 \times H_1$$

C_1 étant connu, on mesure H_e et H_1 .

On en déduit la constante K du verre diffuseur.

Connaissant celle-ci, quand on mesure l'indice de diffusion I_o d'un précipité trouble de concentration inconnue x , on en déduit cette concentration en écrivant

$$x = K \times \frac{H_e}{H_x} = K \times I_o$$

Cette notion de l'indice de diffusion est commode, parce qu'elle apporte une certaine clarté dans le langage.

En effet : un milieu trouble absorbe et diffuse la lumière et, à un fort indice de diffusion doit correspondre, théoriquement du moins et en première approximation une forte absorption.

Il est commode de dire qu'un milieu fortement diffuseur a un indice de diffusion élevé; en un mot, *l'indice de diffusion* varie dans le même sens que le *pouvoir diffuseur*.

(1) HENRI BÉNARD et ALBERT LABORDE, Sur le dosage de l'albumine par les procédés dits néphélométriques. *C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXVI, p. 98, séance du 8 janvier 1923.

En plus de cette commodité apportée dans le langage, l'utilisation de ce verre diffuseur m'a rendu quelques services dans l'étude des variations des pouvoirs diffuseurs de certains précipités. Je pense que c'est un perfectionnement apporté à ce genre de mesures.

CHAPITRE II

ETUDE DU DOSAGE DE L'ALBUMINE PAR LES PROCÉDÉS NÉPHÉLÉ MÉTRIQUES

En utilisant comme précipitant l'acide sulfosalicylique, P.-A. KOBER (1), et O. FOLIN et W. DENIS (2) dosèrent soit la caséine introduite dans des milieux digestifs pour suivre l'action de certains ferments, soit l'albumine de l'urine. Le taux de l'acide sulfosalicylique employé était finalement aux environs de 3 p. 100 dans les travaux de A. KOBER et de 1,25 p. 100 dans ceux de O. FOLIN et W. DENIS. Les louches étaient comparés à des précipités de protéine dont la concentration finale dans des milieux troubles, était de 0.3 pour 10.000 à 1 pour 10.000.

Il semble que les diffusimètres utilisés ne permettaient pas de comparer entre eux sans corrections des précipités de concentrations très différentes. Toutefois, O. FOLIN et W. DENIS admettaient une variation de concentration de 1 à 3.

..

Yvonne BÉNARD-RAYNEAU a montré d'une part que les mesures diffusimétriques sont fidèles quand on les répète dans des conditions bien définies, sur les solutions d'un même sérum de

(1) PHILIP ADOLPH KOBER, Nephelometry in the study of proteases and nucleases. *The Journal of Biological Chemistry*, vol. XIII, Baltimore, 1912-1913, p. 485 à 498. *The Journal of the American Chemical Society*, vol. XXXV, n° 3 (Easton-Pa), mars, 1913, p. 290 à 292.

(2) OTTO FOLIN AND W. DENIS, The quantitative determination of albumin in urine. *The Journal of Biological Chemistry*, vol. XIII, Baltimore, 1914, p. 273.

cheval ; et, d'autre part que la formule $\alpha a = C. b.$, qui relie les concentrations α et C , aux hauteurs a et b , d'éclairement des milieux troubles, se vérifie bien pour une même albumine à des concentrations variant dans le rapport de 1 à 2,5, la plus forte concentration étant celle d'un sérum dilué au $\frac{1}{100}$ avant précipitation et dilué au $\frac{1}{1.000}$ dans le milieu trouble, après précipitation.

De plus, elle a montré que de tels précipités d'albumine comparés entre eux (0 cmc. 5 de sérum dilué précipité par 10 centimètres cubes d'acide trichloracétique à 20 p. 100) ont les uns par rapport aux autres un pouvoir diffuseur suffisamment stable pendant au moins deux heures et se prêtent fort bien à des mesures successives avec une précision de 2,5 p. 100 environ.

..

Jusqu'à ce jour, les opacimètres n'ont guère été utilisés pour le dosage des albumines, tandis qu'ils regurent d'autres applications.

*
* *

HENRI BÉNARD et moi-même, nous nous sommes proposé de comparer l'une à l'autre les deux méthodes dénommées diffusimétrique et opacimétrique, en les appliquant au dosage des albumines. Les appareils employés sont ceux qui ont été décrits au chapitre précédent.

Nous avons d'abord recherché dans quelles proportions on était en droit de faire varier différents facteurs sans modifier les propriétés optiques d'un précipité d'albumine ; et quelle rigueur il fallait apporter dans la définition des conditions de la précipitation.

D'autre part, les albumines du sérum ou du liquide céphalo-rachidien, sont constituées par une association de sérine et de

globuline, dans des proportions variables; et l'on peut imaginer que tout dosage global de ces albumines serait impossible par les procédés néphélométriques si les propriétés optiques de l'un et de l'autre corps étaient très différentes. Nous avons étudié la perturbation que peut apporter cet effet dans la précision des mesures, et nous nous sommes efforcés d'établir les points principaux d'une technique qui permet aux cliniciens d'accorder quelque crédit aux renseignements tirés de ces mesures.

Le phénomène physique utilisé n'étant pas simple, les albumines étant des corps dont la définition chimique n'est pas précise, nous avons décidé, en première approximation, de considérer comme négligeables pour une mesure donnée des écarts inférieurs à 10 p. 100.

Albumines et réactifs de précipitation.

Albumines.

La connaissance des albumines, au point de vue chimique, a préoccupé depuis longtemps de nombreux chercheurs.

Les beaux articles de P. SCHÜTZENBERGER parus dans le *Dictionnaire de Chimie* de Ad. WÜRTZ (1), de 1868 à 1892, nous tiennent au courant des efforts antérieurs tentés par différents auteurs, et par SCHÜTZENBERGER lui-même dans le but de déterminer la constitution des matières albuminoïdes.

De nos jours, le développement rapide de la chimie colloïdale a donné naissance à de nombreux travaux sur la nature colloïdale des albumines; et, parmi ceux-là, ceux de SÖRENSEN (2), de LUMIÈRE (3) se distinguent.

Dès 1884, Edouard GRIMAUX (4) s'intéressait à cette question

(1) E. LAMBLING et P. SCHÜTZENBERGER, *Dictionnaire de Chimie : Albumine. Albuminoïdes*. T. I, p. 91 à 95, 1868; 1^{er} supplément, 1^{re} partie, p. 54 à 76; 2^e supplément, t. I, p. 123 à 144, 1892. Voir aussi les différents articles sur Fibrine-Globuline-Sang.

(2) S.-P. SØRENSEN, *Bull. Soc. Chim.*, t. XXIX, 1921, p. 593.

(3) A. LUMIÈRE, *Rôle des colloïdes chez les êtres vivants*. Masson, 1921.

(4) EDOUARD GRIMAUX, Sur quelques réactions de l'albumine et du colloïde amidobenzoïque. *C. R. Soc. Biol.*, 10 mai 1884, 8^e série, p. 353 à 356. Sur la coagulation des matières albuminoïdes. *C. R. Soc. Biol.*, 16 février 1884.

ESPÈCES	AUTEUR ET SOURCE	ALBUMINES TOTALES DANS 100 GMC.	GLOBULINE DANS 100 GMC.	SÉRINE DANS 100 GMC.	GLOBULINE P. 100	SÉRINE P. 100	RAPPORT Globuline Sérine
Rat blanc } (albino-rat) }	Robertson	6,5 ± 0,20	1,7 ± 0,15	4,8 ± 0,2	26 ± 2	74 ± 2	0,35
Lapin	id.	6,7 ± 0,20	1,9 ± 0,15	4,8 ± 0,2	28 { 31 } ± 2 26 { }	72 { 74 } ± 2 69 { }	0,39
Lapin	Hammarsten (Würtz)	6,22 ?	1,79	4,34			0,413 ?
Lapin	Hammarsten (Robertson)				29 { 32 } 25 { }	71 { 75 } 68 { }	0,408
Lapin	Isagaki (Robertson)				29 { 36 } 21 { }	71 { 79 } 64 { }	0,408
Homme . . .	Hammarsten (Würtz)	7,62	3,10	4,52			0,635
Bœuf	Hammarsten (Würtz)	7,50	4,17	3,33			1,250
Bœuf	Hammarsten (Robertson)				56 { 64 } 54 { }	42 { 46 } 36 { }	1,330
Cheval . . .	Hammarsten (Robertson)				63 { 71 } 58 { }	37 { 42 } 29 { }	1,70
Cheval . . .	Lewinski (Robertson)				63 { 69 } 56 { }	37 { 44 } 31 { }	1,70
Chien	Hammarsten (Würtz)	7,26 ?	4,56	2,08			2,19 ?

TABLEAU I

et montrait l'existence d'une analogie étroite entre les albuminoïdes et un colloïde de synthèse, prouvant que les propriétés des albuminoïdes n'ont rien de spécial et dépendent de leur caractère colloïdal.

Au point de vue pratique, où je me suis placé, il me suffisait de savoir distinguer, dans le sérum sanguin, la sérine (sérum-albumine) et la globuline, en deux groupes distincts.

Les travaux de HAMMARSTEN (1) et de T. BRAILSFORD-ROBERTSON (2) permettent de classer les sérums des différentes espèces animales, à l'état normal, d'après la valeur du rapport $\frac{\text{globuline totale}}{\text{sérine totale}}$ qui caractérise chaque sérum.

J'ai pu ainsi dresser le tableau I ci-dessus, en réunissant ces différentes données :

Les séparations d'HAMMARSTEN ont été faites par le sulfate de magnésie à saturation; celles de ROBERTSON par le sulfate d'ammoniaque de diverses concentrations (3). Cet auteur établit des distinctions entre l'euglobuline et les pseudoglobulines; j'ai tenu compte seulement, dans ce tableau des globulines totales.

A. VILA (4), en collaboration avec M. PIETTRE, a mis au point un procédé de séparation des protéines du sérum de cheval par un traitement à l'acétone; il distingue ainsi 3 fractions :

Une globuline insoluble dans l'acide chlorhydrique à $\frac{1}{1.250}$.

Une globuline soluble dans cette solution acide, mais insoluble dans l'eau;

Une sérine (sérum-albumine) soluble dans l'eau pure.

De ses résultats expérimentaux, on déduirait pour le rapport $\frac{\text{globulines totales}}{\text{sérine}}$ dans le sérum de cheval, la valeur 1,29.

(1) WURTZ, *Dictionnaire de Chimie*, 1^{er} supplément, 2^e partie, p. 1416. Article d'Armand Gautier.

(2) *The Journal of biological chemistry*, vol. XIII, 1912-1913, Baltimore, p. 325 à 340.

(3) ROBERTSON dosait ses protéines par un procédé réfractométrique, après les avoir isolées.

(4) M. PIETTRE et A. VILA, *C. R. Acad. Sc.*, T. 170, p. 1466, séance du 14 juin 1920. Sur la séparation des protéines du sérum. — A. VILA, Séparation des globulines du sérum de cheval. *C. R. Acad. Sc.* Séance du 23 octobre 1922, p. 728.

Si le rapport $\frac{\text{globulines}}{\text{sérine}}$ varie nettement d'une espèce animale à une autre espèce, il est également variable, chez un même individu dans certains états pathologiques.

T. BRAILSFORD ROBERTSON a pu mettre en évidence l'influence du jeûne sur la valeur de ce rapport chez certains animaux. Le tableau II ci-dessous montre que, dans ce cas, la globuline augmente par rapport à la sérine chez le rat blanc (albino-rat), tandis qu'il diminue chez le lapin et chez le bœuf.

	RAPPORT $\frac{\text{GLOBULINE}}{\text{SÉRINE}}$	
	Chez l'animal nourri normalement.	Chez l'animal soumis à la diète.
Albino-Rat.	0,35	0,56
Lapin	0,40	0,20
Bœuf	1,38	0,56
Cheval.	1,70	0,75

TABLEAU II

S. LIWINSKI (1) avait montré auparavant que le jeûne entraînait également chez le chien (carnivore) une augmentation de la globuline par rapport à la sérine.

Dans tous les cas, d'après ROBERTSON, les protéines totales du sérum augmentent pendant l'inanition.

Chez l'homme, ROBIN, puis LOEPER, FORESTIER et TONNET (2) ont étudié les variations des albumines totales chez les cancéreux, trouvant soit une diminution dans les cas d'anémie et de cachexie, sinon un accroissement. D'après ces auteurs, le cancer s'accompagne d'une augmentation du rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$.

W. FILINSKI (3) a trouvé une augmentation du taux de la globuline par rapport à la sérine comme résultat de l'insuffisance hépatique.

(1) J. LIWINSKI, *Arch. für d. ges. Physiol.*, t. C. p. 611, 1903.

(2) *La Presse médicale*, 1921, p. 333.

(3) W. FILINSKI, *Presse médicale*, Samedi 18 mars 1922, p. 236.

Ces quelques considérations montrent qu'il est intéressant d'étudier l'influence possible de ces variations de la globuline sur les résultats numériques fournis par les méthodes néphélométriques.

Réactifs.

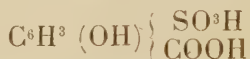
Pour obtenir des précipités d'albumine, j'ai employé de l'acide sulfosalicylique, de l'acide trichloracétique et du sulfate d'ammoniaque.

Acide sulfosalicylique.

C'est le dérivé sulfurique de l'acide salicylique :



Sa composition se représente par la formule :



Il se présente en longues aiguilles minces, très solubles dans l'eau, l'alcool, l'éther, et qui absorbent l'humidité de l'air. Fond à 120°. Se décompose à température élevée en phénol et acide salicylique.

Il n'est pas attaqué par l'acide azotique ou l'acide chlorhydrique, même concentrés et à l'ébullition.

En présence de sels ferriques, les solutions se colorent en violet rouge.

On trouve parfois dans le commerce des cristaux blancs d'acide sulfosalicylique. Mais si l'on filtre sur papier les solutions de ces cristaux, celles-ci se colorent en rouge et cette coloration peut être une gêne pour les mesures optiques.

Acide trichloracétique.

(Trichloroéthanoïque).

C'est un acide monobasique ayant la constitution chimique représentée par la formule



Son poids moléculaire est 163,388, en adoptant pour les poids atomiques de ses constituants les valeurs fixées par la *Commission Internationale des Poids Atomiques* de 1912 :

$$\text{O} = 16, \text{C} = 12, \text{H} = 1.008, \text{Cl} = 35,46$$

Il se prépare industriellement en oxydant du chloral par de l'acide azotique fumant.

L'acide trichloracétique se trouve dans le commerce sous la forme de cristaux incolores, très solubles dans l'eau et même déliquescents. Il fond à 46°, distille sans altération entre 195° et 200° (1).

Si on dissout cet acide commercial dans l'eau distillée, à poids égaux, on obtient une solution limpide qui se trouble par dilution ultérieure. C'est ainsi qu'une solution renfermant environ 200 grammes d'acide trichloracétique par litre de solution constitue, au moment de sa préparation, un milieu trouble capable d'absorber et de diffuser la lumière d'une façon notable.

Ce fin précipité qui reste en suspension dans la solution provient sans doute d'impuretés entraînées dans les cristaux d'acide au cours de leur fabrication ; il traverse tout d'abord les filtres de papier ; mais, si on laisse la solution trouble en repos pendant plusieurs jours, les grains se réunissent en petits amas et sont alors retenus par les filtres : on obtient ainsi une solution étendue limpide qu'il est facile de concentrer en l'évaporant lentement à 40° C. Par ce moyen, on peut obtenir des solutions renfermant 100 grammes d'acide trichloracétique dans 100 centimètres cubes, solutions concentrées qui ne se troublent pas quand on les étend d'eau distillée et qui constituent par conséquent des solutions-mères utilisables pour les mesures néphélométriques.

Titration des solutions d'acide trichloracétique.

Le produit commercial pouvant contenir une certaine proportion d'eau, il est indispensable de doser l'acide trichloracétique contenu dans la solution-mère et dans ses dilutions.

(1) AD. WURTZ, *Dictionnaire de Chimie*, t. I, p. 28.

J'ai effectué ces dosages par le procédé volumétrique classique en comparant la solution d'acide trichloracétique à des solutions normales d'acide oxalique cristallisé (63 gr. de $\text{COOH} - \text{COOH} + 2 \text{H}_2\text{O}$ par litre), ou d'acide sulfurique (49 gr. SO_3H_2 par litre).

Deux volumes égaux d'une même solution de soude colorée par de la liqueur de tournesol étaient neutralisés, d'une part, par la solution d'acide trichloracétique et, d'autre part, par la solution d'acide normal.

Ces titrages peuvent être obtenus facilement avec une précision de 1 p. 100 environ au moyen de burettes convenablement calibrées.

La solution normale d'acide oxalique se fait par une pesée des cristaux purs, que l'on dissout dans de l'eau distillée.

Un procédé commode et suffisamment précis pour faire une solution normale d'acide sulfurique consiste à diluer 10 fois une solution de densité 1,290 à 15° centigrades, qui contient 490 grammes d'acide par litre.

Une erreur de 1 unité de la troisième décimale faite sur la lecture de la densité n'entraîne, dans ces conditions, qu'une erreur de 0, 4 p. 100 environ sur l'évaluation du titre de l'acide (1).

Densité des solutions d'acide trichloracétique.

Ayant ainsi obtenu des solutions titrées d'acide trichloracétique, j'ai déterminé leur densité, car, dans la pratique courante, il est beaucoup plus rapide de mesurer une densité que de faire un dosage volumétrique.

J'ai employé simplement une série de petits densimètres gradués les uns à la suite des autres, en grammes par litre par division, sur une échelle de 50 grammes par litre.

(1) On peut s'il y a lieu tenir compte de la variation de la densité de l'acide en fonction de la température : cette variation est environ de 0,00067 par degré entre 10° et 20°. Ainsi, la solution contenant 490 grammes d'acide par litre à 15° présente à 18° une densité de $1,2900 - 0,00067 \times 3 = 1,2880$ et à 14° une densité de $1,2900 + 0,00067 = 1,2906$.

La série est ainsi constituée :

1.000 à 1.050; 1.050 à 1.100; 1.100 à 1.150; 1.150 à 1.200;
1.200 à 1.250; 1.250 à 1.300; 1.300 à 1.350.

Tous ces instruments ont été vérifiés par le LABORATOIRE D'ESSAIS DU CONSERVATOIRE NATIONAL DES ARTS ET MÉTIERS; un procès-verbal de vérification les accompagne, les déclarant exacts à 1 gramme près à 15°C.

L'un d'eux (1.100 à 1.150) a fait l'objet d'un étalonnage spécial : une table de correction lui est adjointe.

Ces précautions ne sont pas inutiles, car il n'est pas rare, chez certains constructeurs, de rencontrer de tels instruments dits de précision et qui peuvent présenter des écarts atteignant 3 grammes par litre et même davantage.

Le tableau III ci-dessous donne la densité + 19°C, à + 15°C et à + 3°C, de solutions d'acide trichloracétique de différents litres.

Densité des Solutions d'Acide trichloracétique.

TITRE DE L'ACIDE TRICHLORACÉTIQUE (en grammes) POUR 100 CMC A 19° C.	DENSITÉ A ± 1 GR. PAR LITRE PRÈS		
	à + 19° C.	à + 15° C.	à + 3° C.
10	1.054	1.054,5	
15	1.075	1.075,8	1.078
20	1.098	1.099	
25	1.122	1.123,5	1.128
30	1.146	1.147,5	
35	1.165	1.167	
40	1.187	1.189,5	1.197
51	1.235		

TABLEAU III

Toutes les opérations de dilution et toutes les mesures étant faites au moyen de burettes graduées et non pas par pesée, le

titre des solutions est toujours indiqué en grammes par litre ou en grammes pour 100 centimètres cubes.

La teneur en grammes par litre et la densité d'une solution donnée varient l'une et l'autre, dans une même proportion en fonction de la température et la loi de cette variation est celle de la dilatation de la solution.

Entre 15°C et 19°C, les variations de concentration pouvant provenir de variations de la température ne dépassent pas, pour les solutions étudiées d'acide trichloracétique, 1 p. 100.

Sulfate d'ammoniaque.



Ce sel se trouve dans le commerce à l'état de cristaux transparents.

Densité des solutions de Sulfate d'Ammoniaque.

CONCENTRATION de $\text{SO}^4(\text{NH}^4)^2$ en grammes pour 1000 gr. de solution.	DENSITÉ à 19°C.	CONCENTRATION de $\text{SO}^4(\text{NH}^4)^2$ en grammes par litre de solution à 19°C.	CONCENTRATION de $\text{SO}^4(\text{NH}^4)^2$ en grammes pour 1000 gr. de solution.	DENSITÉ à 19°C.	CONCENTRATION de $\text{SO}^4(\text{NH}^4)^2$ en grammes par litre de solution à 19°C.
50	1,0287	51,435	270	1,1554	311,96
100	1,0575	105,75	280	1,1612	325,13
110	1,0632	116,95	290	1,1670	338,43
120	1,0690	128,28	300	1,1724	351,72
130	1,0747	139,71	310	1,1780	365,18
140	1,0805	151,27	320	1,1836	378,75
150	1,0862	162,93	330	1,1892	392,43
160	1,0920	174,72	340	1,1948	406,23
170	1,0977	186,61	350	1,2004	420,14
180	1,1035	198,63	360	1,2060	434,16
				à 15°C	à 15°C
190	1,1092	210,74	370	1,2116	448,27
200	1,1149	222,98	380	1,2172	462,53
210	1,1207	235,34	390	1,2228	476,89
220	1,1265	247,83	400	1,2284	491,36
230	1,1323	260,43	410	1,2343	506,06
240	1,1381	273,14	420	1,2402	520,88
250	1,1439	285,97	430	1,2462	535,86
260	1,1496	298,89	440	1,2522	550,97

TABLEAU IV

Son poids moléculaire est 132, 154, en adoptant les poids atomiques :

$$O = 16 \quad S = 32,07 \quad N = 14,1 \quad H = 1,008.$$

Les différents formulaires de chimie donnent des renseignements assez étendus sur les solutions de sulfate d'ammoniaque.

Je peux ainsi reproduire ci-dessus un tableau IV calculé, d'après les tables de SHIFF et GERLACH publiées dans l'*Agenda du Chimiste*. J'ai mesuré que la solution saturée à 19°C, contient 537 grammes par litre et a une densité égale à : 1,246.

Nous avons montré le peu d'influence exercée par les variations de température, entre 15° et 19°, sur la densité des solutions d'acide sulfurique et d'acide trichloracétique. A tel titre, que, dans la pratique courante, on peut se dispenser de faire intervenir ce terme de correction relatif à la variation de température.

Cette remarque s'applique encore au cas du sulfate d'ammoniaque, car j'ai pu déterminer que sa densité variait moins avec la température que celle des acides mentionnés ci-dessus.

CHAPITRE III

EXPÉRIENCES

1° *Sérum du sang.*

DOSAGE DE L'ALBUMINE TOTALE PAR RÉFRACTOMÉTRIE.

Les travaux de REISS (1), ROBERTSON (2) VAUCHER (3), nous autorisent à admettre que la mesure de l'indice de réfraction d'un sérum frais détermine la teneur du sérum en albumines totales avec une approximation suffisante, indépendamment du rapport des globulines aux sérines.

Je reproduis ci-dessous le tableau V qui permet de faire cette détermination :

Variations de la teneur d'un sérum, en albumine, en fonction de l'indice de réfraction.

INDICE DE RÉFRACTION	ALBUMINE POUR 100 (Recueil de Constantes Physiques).	ALBUMINE . POUR 100 CMC. DE SÉRUM (Thèse d'E. Vaucher).
1,3332	0,0000	»
1,3359	0,14	»
1,3363	0,35	»
1,3367	0,56	»
1,3370	0,70	0,63
1,3390	1,80	1,74
1,3409	2,80	2,84
1,3427	3,90	3,94
1,3446	4,90	5,03
1,3465	6,00	6,12
1,3484	7,10	7,20
1,3502	8,10	8,28
1,3520	9,10	9,35
1,3539	10,20	10,41

TABEAU V

(1) *Loc. cit.*

(2) *Loc. cit.*

(3) *Loc. cit.*

Les écarts entre les nombres des 2 sources où j'ai recueilli ces données, proviennent sans doute, pour une part, de ce que, à la colonne 2, l'albumine est exprimée en grammes pour 100 grammes de solution, tandis qu'à la colonne 3, elle est exprimée en grammes pour 100 centimètres cubes de solution. — La densité des solutions d'albumine est de 1,013 au taux de 5 p. 100 et de 1,026 au taux de 10 p. 100 (*Agenda du chimiste*).

Quand le sérum contient de l'urée, il faut faire la correction suivante indiquée dans la thèse de E. VAUCHER.

Si le sérum contient 1 gr. d'urée par litre, on retranche	0 gr. 60 d'albumine par litre
— — 2 gr. — — —	1 gr. 20 —
— — 3 gr. — — —	1 gr. 80 —
— — 4 gr. — — —	2 gr. 50 —
— — 5 gr. — — —	3 gr. 20 —
— — 6 gr. — — —	4 gr. 00 —

du nombre trouvé au réfractomètre.

Les mesures d'indice de réfraction sont faites avec précision, soit avec le dernier modèle du réfractomètre de Ch. FERY (1), n'utilisant qu'une petite quantité de liquide, soit avec le réfractomètre à réflexion totale d'ABBE, modifié par PULFRICH (1898) (2).

J'ai voulu contrôler moi-même, à plusieurs reprises, les indications réfractométriques par des dosages pondéraux, et les écarts entre les résultats fournis par les 2 méthodes pouvaient atteindre 3 et 5 p. 100. J'ai attribué ces écarts au fait que la technique des dosages pondéraux d'albumine ne m'est pas extrêmement familière; en effet, les auteurs signalent parfois une concordance beaucoup plus parfaite. Toutefois, étant donné le but que je poursuivais, je n'avais pas à m'attarder sur ce point, et, au cours de mes expériences, j'ai pris pour base les dosages d'albumine effectués par réfractométrie.

SÉPARATION DES ALBUMINES

Dans le but d'étudier individuellement la globuline et la sérine, j'ai effectué la séparation de ces corps par le procédé au sulfate d'ammoniaque.

(1) H. BOUASSE, *Appareils de mesure et d'observation*. Delagrave, Paris, p. 432.

(2) O.-D. CHWALSON, *Traité de Physique*, t. II, fasc. 2, p. 216.

On ajoute à 1 volume de sérum, 1 volume égal de sulfate d'ammoniaque saturé.

On laisse digérer, on filtre.

L'albumine passe en solution, exempte de globuline.

La globuline est lavée sur filtre avec une solution de sulfate d'ammoniaque à 1/2 saturation.

Le précipité ainsi lavé est recueilli et redissous dans du sulfate d'ammoniaque au 1/10 de la saturation.

J'étends la solution d'albumine par une solution de chlorure de sodium à 15 p. 100 et j'ai ainsi deux solutions d'albumine et de globuline, qu'il est possible de titrer pour coagulation et pesée.

Je dois à l'amitié de A. VILA d'avoir pu étudier également la sérine et la globuline de cheval et d'homme isolées par le procédé à l'acétone qu'il a mis au point, en collaboration avec M. PIETTRE (1).

Les solutions limpides de sérine que m'a données A. VILA sont exemptes d'électrolytes ; la globuline, par contre, ne reste en solution que grâce à la présence d'une trace négligeable de soude : 40 milligrammes de soude NaOH environ dans 100 centimètres cubes.

J'ai pu disposer ainsi de 3 portions distinctes :

1^o Albumine du sérum (sérine).

2^o Globuline insoluble dans H.Cl à 1/1250.

3^o Globuline soluble.

ÉTUDE NÉPHÉLÉMETRIQUE DES PRÉCIPITÉS D'ALBUMINE

Après avoir mesuré l'indice de réfraction du sérum, celui-ci est dilué au 1/5 par une solution de chlorure de sodium renfermant 15 grammes NaCl pour 100 centimètres cubes, suivant les indications de FOLIN et DENIS.

A partir de cette solution-mère sont faites les dilutions destinées aux mesures néphélémétriques.

La précipitation est faite en faisant tomber rapidement le

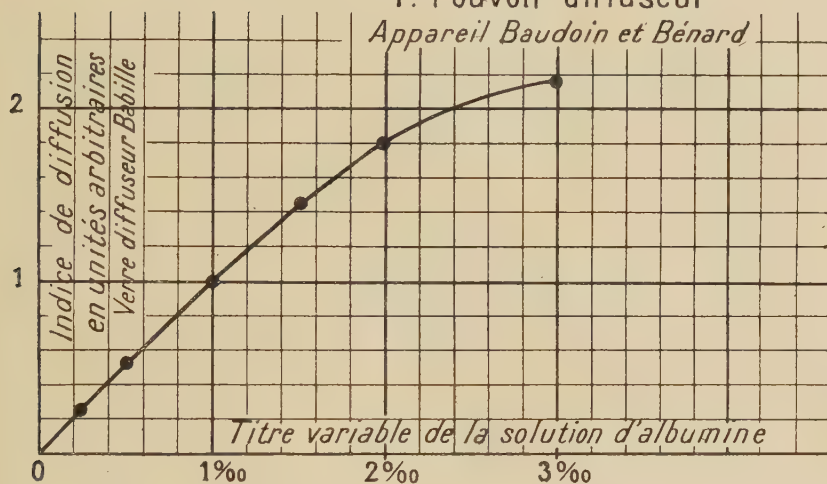
(1) M. PIETTRE et A. VILA, *Loc. cit.*

Albumines totales du sérum humain

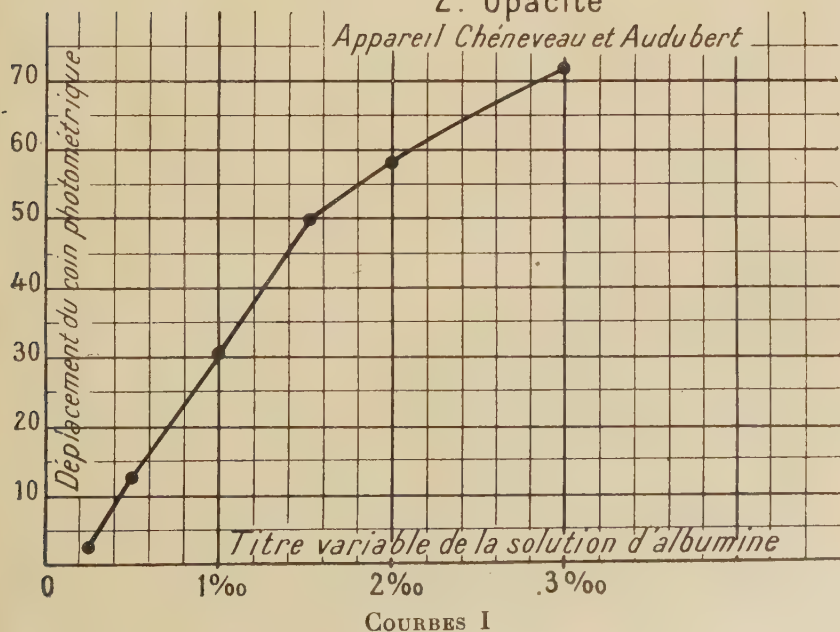
Albumine de titre variable : 0^{cc}5

Acide trichloracétique à 20% : 9^{cc}5

1° Pouvoir diffuseur *Appareil Baudoin et Bénard*



2° Opacité *Appareil Chéneveau et Audubert*



réactif précipitant sur la solution diluée d'albumine, dans la proportion suivante :

Solution diluée d'albumine	0 cmc. 5
Réactif précipitant	9 cmc. 5

Les louches sont observés dans les appareils, soit en lumière blanche, soit surtout en lumière verte sélectionnée par des écrans de WRATTEN-CALMELS dans une étroite bande du spectre lumineux (Vert ϵ : 5.200 à 5.550 Angströms).

H. BÉNARD et moi-même (1), avons constaté que la loi linéaire de CH. CHÉNEVEAU et R. AUDUBERT s'applique en opacimétrie aux dilutions d'un même sérum titrant 0,5 à 1.5 pour 1.000 d'albumine totale quand on les précipite par un acide trichloracétique de titre déterminé. Pour les concentrations élevées, allant de 1,5 à 3 p. 1.000, cette loi semble ne plus s'appliquer d'une façon simple, et une courbe étalon est nécessaire.

Nous avons également montré que, pour les faibles concentrations d'albumine, de 0,1 à 0,8 p. 1.000, l'indice de diffusion peut être considéré comme proportionnel à la concentration, ainsi que l'a montré YVONNE BÉNARD-RAYNEAU (2); mais que, pour des solutions plus concentrées, la loi de variation ne paraît pas si simple et qu'une courbe étalon est nécessaire.

Les courbes 1 ci-dessous traduisent nos résultats expérimentaux :

Les solutions d'albumine au taux de 1 gramme par litre, précipitées par l'acide trichloracétique, forment des louches observables à la fois au diffusimètre et à l'opacimètre; le diffusimètre étant plus sensible que l'opacimètre pour les teneurs en albumine inférieures à 0 gr. 5 par litre.

J'ai ainsi adopté le taux de 1 gramme par litre pour l'étude de l'influence de différents facteurs sur le phénomène optique observé.

(1) *C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXVI, p. 98, 8 janvier 1923. *Procès-verbaux de la Société de Chimie Physique*, séance du 10 janvier 1923.

(2) *Loc. cit.*

Influence de la température.

Les résultats d'une expérience sont notés dans le tableau VI ci-dessous :

1. — DIFFUSIMÉTRIE			
Éprouvette de gauche		Éprouvette de droite	
MILIEU TROUBLE ÉTUDIÉ	HAUTEUR D'ÉCLAIRE- MENT EN CM.	MILIEU TROUBLE ÉTUDIÉ	HAUTEUR D'ÉCLAIRE- MENT A l'équilibre EN CM.
Sérine à 1 p. 1000 en cmc 0,5 Acide trichloracétique à 30 p. 100 en cmc.. Précipitation à 23° C. 9,5	5 10	Sérine à 1 p. 1000 . . 0,5 C Cl³ COOH 30 p. 100. 9,5 Précipitation à 3° C. 10	4,9 10
Globuline 1 p. 1000. . 0,5 C Cl³ COOH 30 p. 100. 9,5 Précipitation à 23° C. 15	5 10 15	Globuline 1 p. 1000. . 0,5 C Cl³ COOH 30 p. 100. 9,5 Précipitation à 3° C. 15,3	5 10,5 15,3
2. — OPACIMÉTRIE			
MILIEU TROUBLE OBSERVÉ		DÉPLACEMENT DU COIN PHOTOMÉTRIQUE	
Sérine précipitée à 23° C.		56,5	
Sérine précipitée à 3° C.		57,5	
Globuline précipitée à 23° C.		34	
Globuline précipitée à 3° C.		35,5	

TABLEAU VI

Les pouvoirs diffuseur et absorbant des précipités de sérine et de globuline n'ont pas été influencés par une différence de 20° C entre les températures de précipitation.

Je peux donc dire que la précipitation des solutions d'albumine au taux de 1 p. 1.000 est indépendante de la température entre + 3 degrés centigrade et + 23 degrés centigrade.

Influence des électrolytes.

A plusieurs reprises, des solutions assez concentrées de sérum total ou d'albumines séparées, au taux de 5 p. 1.000 par exemple, ont été diluées à 1 p. 1.000 dans différents milieux : soit par du chlorure de sodium à 15 p. 100, soit par de l'eau pure, soit par une solution étendue de soude, soit par une solution étendue de sulfate d'ammoniaque.

Je n'ai jamais trouvé de différences supérieures à 10 p. 100, pour une même albumine, entre les précipités provenant de l'une ou de l'autre de ces dilutions.

Ce fait est en quelque sorte assez compréhensible, si l'on pense que finalement, le solvant de l'albumine occupe seulement le 1/20 du volume total obtenu par l'addition du réactif précipitant.

On en déduit toutefois que, si l'on respecte ces proportions de la précipitation, l'effet optique sera indépendant du milieu dans lequel il s'agira d'étudier la concentration en albumine.

Influence de l'âge du précipité.

Il a déjà été vu que les fins précipités subissaient avec le temps des variations capables d'influencer leurs propriétés optiques. Ainsi, KEEN et PORTER (1) ont observé que le soufre précipité par l'action d'un acide sur l'hyposulfite de soude est d'abord très absorbant pour le violet, puis, au bout d'un certain temps, le devient davantage pour le rouge.

J'ai étudié à ce point de vue les précipités albumineux en les comparant, en lumière verte au pouvoir diffuseur fixe d'un verre opale Babilie et à un coin photométrique absorbant.

Le tableau VII d'expériences ci-dessous montre, en fonction du temps les variations d'un précipité de sérine humaine et d'un précipité de globuline humaine. J'ai choisi, pour cet exemple, le cas le plus typique, me réservant de discuter

(1) KEEN et PORTER, *Proc. Roy. Society*, t. LXXXIX, 1914, p. 376, in CH. CHÉNEVEAU et R. AUDUBERT, *Ann. de Physique*, 1920, t. XIII, 9^e série, p. 137.

plus loin les circonstances dans lesquelles ces variations sont atténuées ou modifiées.

Variations, avec le temps, des précipités d'albumine observés en lumière verte.

SÉRINE HUMAINE 1 p. 1000. 0 cmc. 5 CCl ³ -COOH 20 p. 100. . 9 cmc. 5			GLOBULINE HUMAINE 1 p. 1000. 0 cmc. 5 CCl ³ -COOH 20 p. 100. . . 9 cmc. 5		
Age du précipité.	Indice de diffusion en unités arbitraires.	Pouvoir absorbant (déplacement du coin photométrique).	Age du précipité.	Indice de diffusion en unités arbitraires.	Pouvoir absorbant (déplacement du coin photométrique).
1 minute.	0,80	—	1 minute.	0,53	—
2 —	0,85	31,5	2 —	0,55	17
3 —	0,90	—	3 —	0,57	17
4 —	1,00	33,5	4 —	—	18
5 —	1,05	—	5 —	0,61	—
6 —	1,04	37	6 —	—	—
7 —	—	39	7 —	0,63	18,2
8 —	1,09	—	8 —	0,58	—
9 —	1,05	40,5	9 —	—	18,2
10 —	1,08	—	10 —	0,60	—
11 —	—	43	11 —	—	—
12 —	—	—	12 —	—	—
13 —	—	—	13 —	—	—
14 —	—	—	14 —	—	19,5
23 —	1,01	—	18 —	—	—
24 —	0,97	—	25 —	—	0,20
26 —	—	47	27 —	0,59	—
46 —	—	48	28 —	0,59	—
47 —	0,94	—	28 —	—	—
48 —	1,00	—	28 —	—	—
49 —	1,00	—	57 —	0,60	—
53 —	—	50	57 —	—	—

TABLEAU VII

Par l'examen du tableau VII, on voit nettement quelles sont les tendances différentes de la sérine et de la globuline précipitées par l'acide trichloracétique à 20 p. 100.

Le pouvoir diffuseur de la sérine passe par un maximum; celui de la globuline s'accroît dès le début, mais conserve très longtemps sa valeur.

Le pouvoir absorbant de la sérine varie aussi dans de plus grandes proportions que celui de la globuline; ils ne marquent le maximum ni l'un ni l'autre et tendent, en s'accroissant vers une limite que la globuline atteint le plus rapidement.

Ces phénomènes apportent évidemment quelque imprécision dans les mesures.

J'ai étudié l'influence de la concentration de l'acide trichloracétique sur ce phénomène.

Voici les résultats obtenus avec deux sérums humains dilués à 1 p. 100, que je désignerai : Sérum A et Sérum B. Les précipités formés par de l'acide trichloracétique à 20 grammes, 25 grammes, 30 grammes et 40 grammes par litre ont été suivis, depuis le moment de leur formation, pendant au moins 30 et 40 minutes. Des mesures très éloignées furent aussi faites parfois.

Avec un acide à 20 grammes ou à 25 grammes pour 100 centimètres cubes, il se produit dès le début un accroissement du pouvoir diffuseur des précipités. Puis au bout d'un temps plus ou moins long qui paraît être de 15 à 20 minutes dans le cas de l'acide à 20 p. 100 et de 10 à 15 minutes pour l'acide à 25 p. 100, l'indice de diffusion se fixe à une valeur qui semble ne plus varier pendant un temps très prolongé. Au bout de 24 heures, en effet, ces précipités n'avaient pas subi de décantation appréciable et leur indice de diffusion n'avait pas changé comme on aurait été en droit de le supposer.

Avec un acide trichloracétique titrant 30 grammes pour 100 centimètres cubes, l'indice de diffusion n'augmente pas de valeur après la précipitation et se maintient fixe pendant au moins une dizaine de minutes, puis il tend lentement à diminuer progressivement bien que 24 heures plus tard, la sédimentation ne soit pas encore apparente.

Avec un acide trichloracétique titrant 40 grammes pour 100 centimètres cubes, l'indice de diffusion ne présente aucune fixité : il se met immédiatement à décroître rapidement et se précipite, floccule et sédimente.

Ces observations seront prises en considération, plus loin, quand il s'agira de choisir le taux d'acide trichloracétique le plus propre aux mesures néphélémétriques.

Des mesures ont été effectuées beaucoup plus loin du moment de la précipitation, après agitation, alors que les précipités ont flocculé et sédimenté. On est parfois étonné de retrouver, après

agitation, un indice de diffusion voisin de sa valeur initiale.

Je mentionne dès maintenant que les variations s'atténuent, quand, dans la diffusimétrie, un sérum est comparé à un autre sérum précipité au même instant. Dans ce cas, en effet, les variations s'effectuent parallèlement dans les deux tubes de l'appareil et le rapport des pouvoirs diffuseurs des deux précipités étudiés varie peu.

Influence de la concentration de l'acide employée pour la précipitation.

Le facteur le plus important, qui détermine les propriétés optiques étudiées, est le taux de la concentration de l'acide employé pour la précipitation.

J'ai étudié les effets dus à l'acide trichloracétique et à l'acide sulfosalicylique.

Les expériences ont porté soit sur des sérums totaux dilués de telle façon qu'ils renferment 1 gramme d'albumine par litre, soit sur des albumines isolées : sérine et globuline d'homme ou de cheval, séparées par le sulfate d'ammoniaque ou par l'acétone.

Les conditions de la précipitation furent toujours celles que j'ai indiquées dès le début : 1/2 centimètre cube de la solution d'albumine pour 9 cmc.5 du réactif.

Les résultats des expériences sont représentés par les courbes 2, 3 et 4 ci-dessous, sur lesquelles sont portées :

En abscisses : la concentration de l'acide, exprimée en grammes pour 100 centimètres cubes (Je rappelle à ce propos que ces valeurs sont traduites en densité à la page 37).

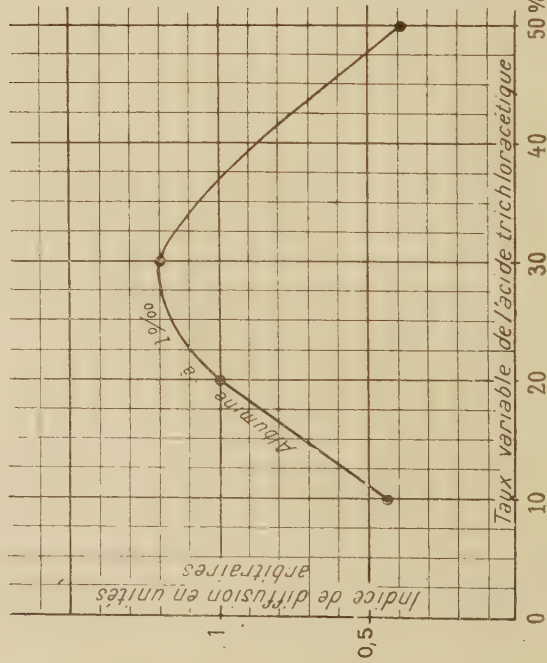
En ordonnées : le pouvoir diffuseur ou le pouvoir absorbant exprimés en unités arbitraires.

Le *pouvoir diffuseur* est noté en *indice de diffusion*, soit par rapport à une solution de sérine ou de globuline prise comme étalon, soit par rapport au verre diffuseur Babilie.

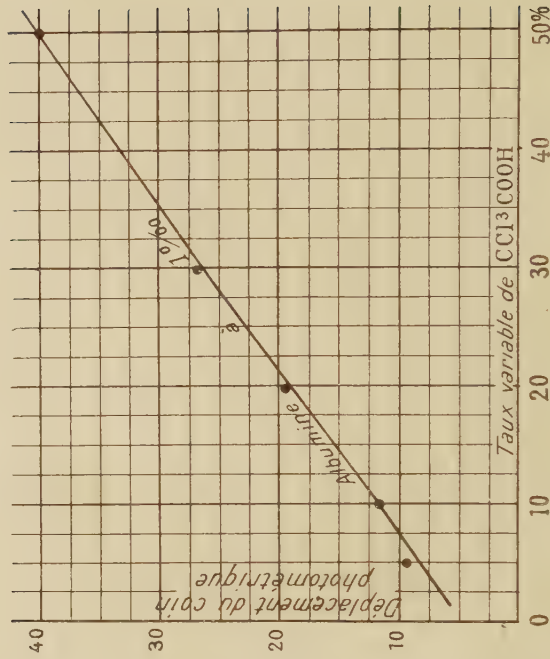
Le *pouvoir absorbant* est noté par la valeur du déplacement du coin photométrique de l'appareil Ch. CHÉNEVEAU et R. AUDUBERT.

Etude de l'albumine totale du sérum du sang de cobaye

au Diffusimètre

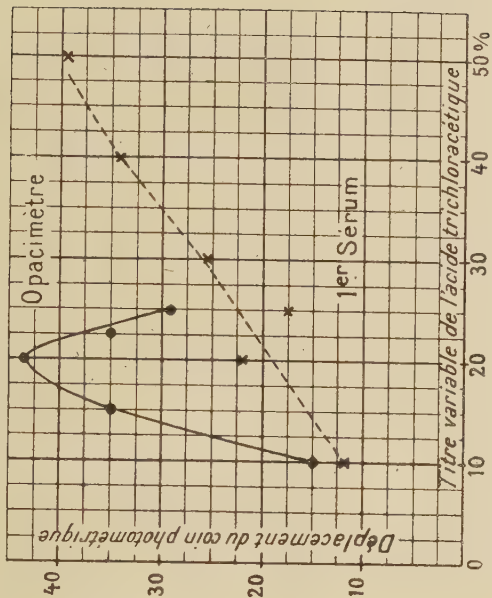
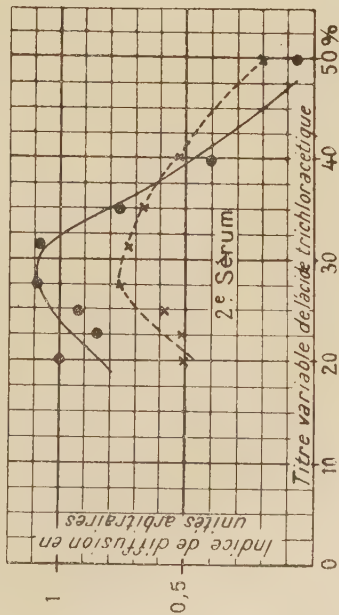
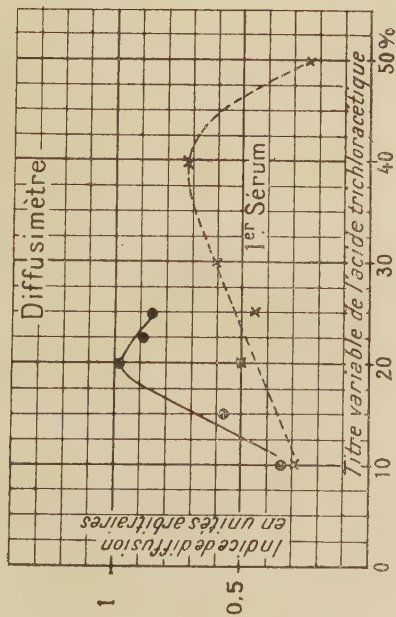


à l'Opacimètre



Precipitation de serine et de globuline humaines séparées au sulfate d'ammoniaque par de l'acide trichloracétique de titre variable.

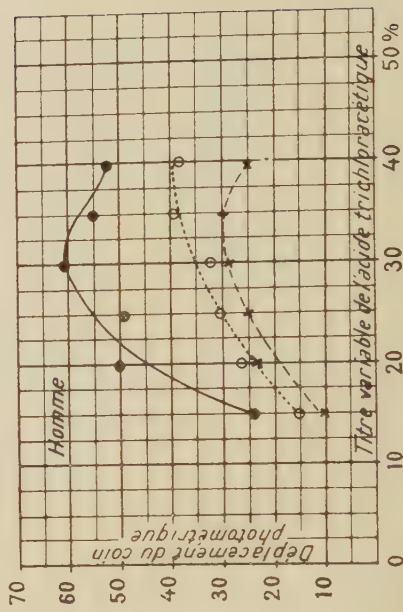
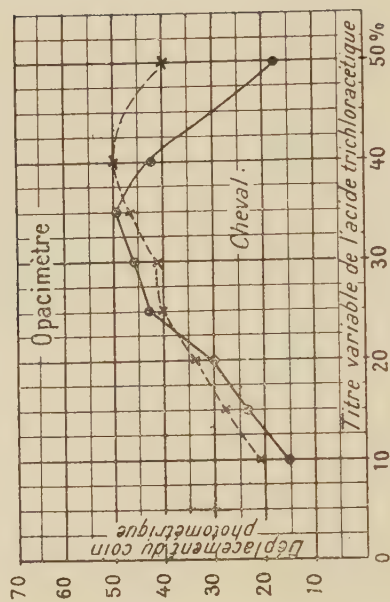
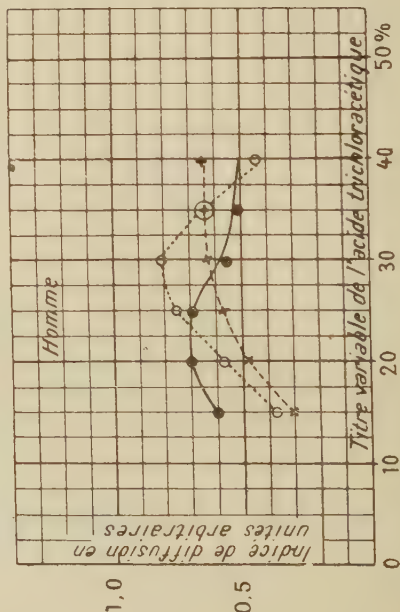
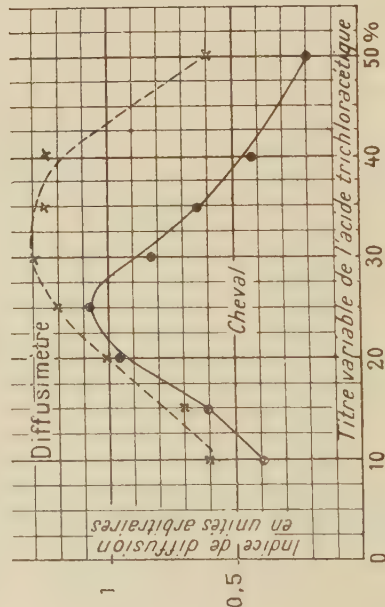
● Sérine.
x--- Globuline



Mesures opacimétriques
correspondantes
non effectuées

Précipitation de sérine et de globuline séparées à l'acétone par de l'acide trichloracétique de titre variable.

— Sérine.
x— Globuline insoluble.
- - - - - " soluble.



L'examen de ces quelques courbes permet d'en déduire les considérations suivantes :

1° *Acide trichloracétique employé comme précipitant :*

a) Dans le cas d'un sérum total (sérum de cobaye) au titre de 1 gramme par litre, *l'indice de diffusion* passe par un maximum pour un taux d'acide trichloracétique compris entre 25 et 30 grammes pour 100 centimètres cubes. A ce moment, l'intensité de lumière diffusée est au moins trois fois plus forte que celle qui correspond au précipité obtenu par l'acide à 10 grammes pour 100 centimètres cubes, et deux fois environ plus intense que dans le cas d'un acide à 40 grammes pour 100 centimètres cubes.

Le *pouvoir absorbant* du précipité varie également avec la concentration de l'acide trichloracétique et peut continuer de croître avec celle-ci, tandis que l'indice de diffusion diminue.

b) Dans le cas de la sérine et de la globuline isolées, au taux de 1 gramme par litre, on observe ceci, dans les grandes lignes : Les deux précipités passent chacun par un maximum de *pouvoir diffuseur*. Ce maximum se produit plus tôt pour la sérine (taux de l'acide trichloracétique : 20 grammes pour 100 centimètres cubes) que pour la globuline (acide à 30-35 grammes pour 100 centimètres cubes).

Le précipité de globuline est d'abord moins diffuseur que celui de sérine, mais pour un taux donné, les deux courbes se croisent. On peut dire à cet instant que les deux précipités sont *équidiffuseurs*. Si on pouvait définir avec précision ce taux de l'acide trichloracétique pour lequel les deux précipités sont équidiffuseurs, la mesure de *l'indice de diffusion* d'un mélange de globuline et de sérine deviendrait indépendante du rapport des deux corps dans le mélange.

Je me suis attaché, par la suite, à déterminer ce taux privilégié. On peut cependant déduire de l'examen des courbes ci-dessus, que ce taux ne doit pas être éloigné de 30 grammes d'acide trichloracétique pour 100 centimètres cubes.

Il est difficile de conclure sur ce point avec une bonne précision, d'après ces seules expériences que j'ai effectuées dans

un but plutôt qualitatif, et dont les résultats sont loin d'être constants ainsi que le laissent apparaître les courbes ci-contre.

Les *pouvoirs absorbants* de la sérine et de la globuline marquent également de notables divergences.

De l'ensemble de ces résultats, il ressort que la globuline précipitée absorbe moins la lumière que la sérine. Le *pouvoir absorbant* de cette dernière passe par un maximum, alors que celui de la globuline a tendance à s'accroître pour des concentrations fortes d'acide trichloracétique. Il semble difficile, d'après certaines expériences, d'obtenir l'équiopacité pour un taux d'acide qui ne soit pas trop élevé; d'autres expériences, au contraire laissent espérer que l'équiopacité peut se produire entre un acide à 20 p. 100 et un acide à 35 p. 100.

J'ai recherché ce que devenait le pouvoir diffuseur dans un *mélange de sérine et de globuline*, pour un taux d'acide trichloracétique correspondant à un écart nettement marqué entre les deux corps précipités. Le mélange a montré un pouvoir diffuseur, intermédiaire à ceux des corps précipités séparément, et dont on pouvait prévoir la valeur d'après les proportions respectives des deux corps dans le mélange.

2° *Acide sulfosalicylique employé comme précipitant :*

On retrouve avec cet acide des maxima de pouvoir diffuseur et de pouvoir absorbant, mais il ne semble pas, d'après la seule expérience que j'ai effectuée, qu'il soit possible d'obtenir un taux convenable de l'acide, permettant d'observer des précipités de sérine et de globuline équidiffuseurs ou équiopaques.

Cette considération, jointe au fait que j'ai déjà signalé, de la coloration rose de ces solutions m'a conduit à ne pas pousser plus loin l'étude de cet acide comme précipitant des solutions d'albumine.

DIFFÉRENCES APPRÉCIABLES A L'OEIL NU ENTRE LES PRÉCIPITÉS DE GLOBULINE ET CEUX DE SÉRINE

Au cours de ces différentes mesures, j'ai pu observer de quelle façon se présentaient les précipités étudiés.

D'une manière générale, un précipité de globuline observé en lumière diffuse, présente une teinte bleutée traduisant la finesse moyenne des grains. Dans les mêmes conditions, un précipité de sérine apparaît gris rougeâtre.

Cette différence de teinte est encore appréciable dans un mélange des deux corps selon que l'un ou l'autre domine.

Quand on augmente le taux de l'acide trichloracétique, la teinte rousseâtre d'un précipité de sérine augmente, puis, après le maximum du pouvoir diffuseur, lorsque le taux de l'acide atteint 40-50 grammes pour 100 centimètres cubes, on voit nettement qu'il se produit un commencement de dissolution du précipité.

Les grains de sérine subissent donc, avant de se dissoudre, une modification qui diminue leur pouvoir diffuseur et augmente leur pouvoir absorbant. L'absorption semble ne diminuer qu'au moment où la dissolution devient apparente.

La floculation et la sédimentation de la sérine et de la globuline s'accomplissent aussi d'une façon très différente pour chacun des précipités.

Pour un acide d'une concentration comprise entre 21 et 25 grammes pour 100 centimètres cubes, la globuline sédimente en flocons très blancs, surmontés d'un liquide limpide; la sérine sédimente mal, en nuages peu opaques surmontés d'un liquide qui reste longtemps trouble.

*
*

On voit ainsi, qu'à tout point de vue, les précipités de ces deux corps se comportent différemment et conservent leurs caractères d'une façon indépendante dans un mélange.

Choix du taux de l'acide trichloracétique précipitant.

Il est donc très important, en diffusimétrie comme en opacimétrie, de définir avec précision le taux de l'acide trichloracétique employé pour la précipitation.

Aucun dosage global des albumines totales d'un sérum ne

serait possible, par ces procédés, si le phénomène observé dépendait de la valeur du rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$, ou de la nature de l'albumine (1).

Un acide trichloracétique sera bon pour les dosages néphélométriques d'albumine quand il satisfera aux deux conditions suivantes :

1° Donner des précipités d'albumine dont la variation avec le temps soit aussi faible que possible, tant pour la sérine que pour la globuline.

2° Faire avec ces deux corps des précipités équidiffuseurs.

Pour étudier ces conditions, je me suis adressé à des sérums humains de diverses provenances et à des sérums de bœuf et de mouton.

J'ai dosé, par réfractométrie, l'albumine totale contenue dans ces sérums. Puis, les ayant dilués au 1/100, j'ai mesuré leur indice de diffusion, par rapport au verre diffuseur Babilie (voir page 25).

Les essais ont porté sur des acides trichloracétiques à 20 grammes, 25 grammes, 30 grammes et 40 grammes pour 100 centimètres cubes.

Il est évident que l'acide employé correspondra à l'équidiffusion quand les indices de diffusion de ces différents sérums seront proportionnels à la concentration comptée en albumines totales. Autrement dit, la constante K du verre diffuseur :

$$K = \frac{C_1}{I_0}.$$

C_1 = la concentration connue en albumines totales

I_0 = indice de diffusion mesuré par le rapport des hauteurs d'éclairement, a , du verre diffuseur et b , du précipité d'albumine : $I_0 = \frac{a}{b}$

devra être la même quand on la calculera au moyen des mesures effectuées sur l'un ou l'autre des sérums, quelle que soit la valeur du rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$.

(1) H. BÉNARD et A. LABORDE, C. R. Acad. Sc., t. CLXXVI, p. 100. Séance du 8 janvier 1923.

J'ai obtenu, entre autres, les résultats consignés dans le tableau VIII ci-après.

Dans chaque expérience, l'indice de diffusion était suivi, depuis la formation du précipité, pendant plusieurs minutes, et les indices de diffusion qui sont relevés dans ce tableau sont obtenus en faisant la moyenne de plusieurs mesures effectuées au moment où les propriétés optiques sont stables.

On voit que la constante de concentration K du verre diffuseur varie d'un sérum à l'autre.

Pour un acide trichloracétique à 20 grammes pour 100 centimètres cubes, elle prend la valeur la plus grande dans le cas du sérum B. Ceci revient à dire que, pour une même masse d'albumines totales, le sérum B est moins diffuseur que le sérum A. On en pourrait déduire, d'après ce que nous savons déjà, que le sérum B doit être proportionnellement plus riche en globuline que le sérum A. Nous verrons, par la suite, qu'il en est effectivement ainsi.

Pour un acide trichloracétique à 25 grammes pour 100 centimètres cubes, la constante K prend encore une valeur plus grande dans le cas du sérum B, avec cependant une tendance à diminuer l'écart trouvé précédemment.

Enfin, dans le cas de l'acide trichloracétique à 30 grammes pour 100 centimètres cubes, K est à 10 pour 100 près le même dans les deux cas.

Adoptant alors ce titre de 30 grammes d'acide trichloracétique pour 100 centimètres cubes, j'ai vérifié ce résultat sur du sérum humain et des sérums de bœuf et de mouton. J'ai trouvé les nombres ci-dessous (Tableau IX), qui montrent que, dans ces conditions, on est autorisé à dire que les mesures néphélémétriques d'indice de diffusion permettent d'apprécier à 10 p. 100 près la teneur d'un sérum en albumines totales.

Une expérience effectuée sur les sérums A et B précipités par de l'acide sulfosalicylique au taux de 3 p. 100 préconisé par KOBER, m'a donné pour la constante K des valeurs très différentes :

Sérum A.	K = 1,5
Sérum B.	K = 2,1

Recherche de l'équidiffusion pour 2 sérums humains
dont l'un, le sérum B, renferme une forte proportion de globuline (cancer du foie), voir tableau IX.

Conditions de précipitation. { Sérum dilué au $\frac{1}{100}$ 0 cmc. 5
Solution d'acide trichloracétique.. 9 cmc. 5

RÉACTIF	SÉRUM	C ALBUMINE TOTALE DOSÉE PAR L'INDICE DE RÉFRACTION EN GRAMMES PAR LITRE	I ₀ INDICE DE DIFFUSION MESURÉ PAR RAPPORT AU VERRE DIFFUSEUR ÉTALON	K CONSTANTE DE CONCENTRATION DU VERRE DIFFUSEUR : $K = \frac{I_D}{I_0} \times 100$	RAPPORT DES VALEURS K _A et K _B TROUVÉES POUR CHAQUE SÉRUM A ET B
Titre de l'acide trichloracétique. (en gr. pour 100 cmc.)	Sérum humain A	81	0,76	1,06	0,73 0,85 0,96
	— B	93	0,64	1,45	
	— A	81	0,83	0,97	
	— B	93	0,82	1,13	
	— A	81	0,75	1,08	
	— B	93	0,83	1,12	
Acide sulfosalicylique à 3 p. 100.	Sérum humain A	81	0,54	1,50	0,69
	— B	93	0,43	2,16	

TABLEAU VIII

Ce fait s'ajoute aux raisons que j'ai données plus haut pour rejeter l'application de l'acide sulfosalicylique au dosage néphélométrique des albumines totales du sérum du sang.

L'équiopacité ne paraissant pas atteinte, pour la sérine et pour la globuline, au taux de 30 grammes de CCl_3COOH pour 100 centimètres cubes, je n'ai pas poussé très loin l'étude du dosage des albumines totales par les mesures opacimétriques.

Il n'est pas impossible, cependant que, vers le taux de 30 grammes pour 100 centimètres cubes, les mesures comportent une approximation suffisante. Je me propose de poursuivre cette étude plus tard.

Mais, dès maintenant, on peut faire la remarque suivante :

Les solutions d'acide trichloracétique diluées à 15 et 20 grammes pour 100 centimètres cubes, les solutions d'acide sulfosalicylique diluées, donnant avec la sérine et avec la globuline, des précipités dont les propriétés optiques sont très différentes, il serait probablement possible d'utiliser ces divergences pour mettre en évidence, du moins qualitativement, la plus ou moins grande richesse relative d'un sérum en globuline.

PRÉCIPITATION DE LA GLOBULINE PAR LE SULFATE D'AMMONIAQUE

Mais la globuline est facilement décelée par le sulfate d'ammoniaque. Ainsi que NONNE et APELT(1) ont proposé de le faire dans le liquide céphalo-rachidien, j'ai entrepris quelques expériences préliminaires pour essayer de mettre au point le dosage des globulines dans le sérum du sang en les précipitant par le sulfate d'ammoniaque et en les dosant néphélémétriquement.

Je me suis appuyé sur les faits connus suivants :

Le sulfate d'ammoniaque à 1/2 saturation (densité : 1.135, titre : 268 gr.,5 par litre, voir p. 38) précipite les globulines totales. La sérine ne commence à précipiter qu'au titre de 336 grammes p. 1.000(2), c'est-à-dire pour une densité de la solution d'au moins 1.166.

J'ai adopté pour la précipitation des globulines la densité 1.140 après avoir vérifié que, dans les conditions de mes expériences la sérine isolée chimiquement ne produisait aucun précipité observable par les procédés néphélémétriques.

La globuline précipitée par le sulfate d'ammoniaque est environ 10 fois moins diffusante que son précipité par l'acide trichloracétique à 30 grammes pour 100 centimètres cubes.

La technique adaptée à l'étude de la globuline par les procédés néphélémétriques consistera, par suite, à effectuer la précipitation dans les proportions suivantes :

Sérum dilué au 1/5 dans NaCl à 15 p. 100. 0 cme. 5
Sulfate d'ammoniaque de densité 1.140. . . 9 cme. 5

(1) NONNE et APELT, *Arch. f. Physiol.*, 1907, vol. XLIII, no 2.

(2) A. WÜRTZ, *Dictionnaire de Chimie*, 2^e suppl., t. I, p. 136, 1892. Article de E. Lambling.

Pourra-t-on, à l'aide de ce réactif, effectuer des dosages de la globuline totale d'un sérum par néphélémétrie?

Evidemment oui, si la globuline soluble et la globuline insoluble de VILA, autrement dit si les pseudo-globulines et les euglobulines précipitées ont même pouvoir diffuseur à une même concentration.

Une expérience préliminaire semble indiquer qu'il n'en est pas ainsi et que la globuline insoluble de VILA serait environ 2 fois plus diffusante que la globuline soluble.

Ce point mérite d'être éclairci et fera l'objet de mesures ultérieures.

Dès maintenant, cependant et avant tout contrôle, le sulfate d'ammoniaque de densité 1.140 permet une évaluation grossière de la teneur d'un sérum en globulines.

L'expérience ci-dessous, qui n'est qu'une continuation de celles qui furent relatées plus haut à propos de l'acide trichloracétique, donne bien une idée de ce que l'on peut attendre de ce procédé (Voir Tableau IX).

Les colonnes C, I₀, K, ont déjà été discutées ci-dessus, page 58.

Aux colonnes i_0 et a sont notés les pouvoirs diffuseur et absorbant des précipités formés par le sulfate d'ammoniaque dans le sérum dilué au 1/5. On voit que les sérums de bœuf et de mouton apparaissent plus riches en globuline que le sérum humain C.

La dernière colonne montre que dans les sérums de bœuf, de mouton, ainsi que dans le sérum B la quantité de globuline rapportée à l'albumine totale est plus élevée que chez l'homme.

Quand un étalonnage soigné aura pu être fait permettant de déduire de l'indice de diffusion (colonne i_0) la teneur en globuline, il sera possible de mesurer par les méthodes néphélémétriques le rapport $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$ qui présente sans doute un grand intérêt clinique.

Comparaison de sérums humains, de bœuf et de mouton précipités par l'acide trichloracétique
et par le sulfate d'ammoniaque pour mettre en évidence les différences de teneur en globuline.

SÉRUMS	C ALBUMINE TOTALE DOSÉE PAR L'INDICE DE RÉFRACTION EN GRAMMES PAR LITRE	I_0 INDEXE DE DIFFUSION MESURÉ PAR RAPPORT AU VERRE DIFFUSEUR ÉTALON	A ABSORPTION MESURÉE PAR LE DÉPLACEMENT DU COIN PHOTOMÉTRIQUE	α	K CONSTANTE DE CONCENTRATION DU VERRE DIFFUSEUR EN ALBUMINE TOTALE C $K = \frac{I_0 \times 100}{\text{en grammes par litre.}}$	$\frac{I_0}{C}$ ou $\frac{I_0}{I_0}$ RAPPORT DE LA GLOBULINE A L'ALBUMINE TOTALE EN UNITÉS ARBITRAIRES $\times 100$ ou $\times 1$
		Précipitation du sérum au 1/100 par CCl ³ COOH — 30 p. 100	Précipitation : Sérum au 1/100 CCl ³ COOH — 30 p. 100	Précipitation : Sérum au 1/5 SO ⁴ (NH ⁴) ₂ D = 1140		
Sérum humain A.	81	0,759	"	"	1,08	1,41 ou 1,20
Sérum humain B.	93	0,83	"	"	1,12	1,94 ou 2,18
Sérum humain C.	74	0,74	24,3	25,6	1,00	1,43 ou 1,43
Sérum de bœuf	79	0,814	21,5	39,5	0,97	1,73 ou 1,68
Sérum de mouton	70,5	0,713	23,3	45,0	0,94	2,00 ou 1,89

TABLEAU IX

2° Liquide céphalo-rachidien.

La teneur, en albumines totales, d'un liquide céphalo-rachidien normal oscille entre 0 gr. 2 par litre et 0 gr. 4 par litre.

La méthode diffusimétrique se prête ainsi fort bien à ces déterminations.

La précipitation sera faite dans les proportions suivantes :

Liquide céphalorachidien pur	0 cmc. 5
Acide trichloracétique de densité 1.146 à 19°	9 cmc. 5

La mesure de l'indice de diffusion pourra être faite, en lumière verte, par rapport à un verre diffuseur étalonné, en effectuant quelques mesures au cours des 10 premières minutes et en prenant une moyenne de ces mesures.

Le précipité pourra également être comparé à un précipité d'une solution d'albumine titrée conservée comme étalon.

Les 2 précipités à comparer devront être faits au même instant pour éviter toute cause d'erreur pouvant provenir des modifications qui se produisent en fonction du temps quand on utilise l'acide trichloracétique de densité 1,146 (30 grammes pour 100 cmc.).

Etant donné, d'une part, la moindre sensibilité de la précipitation des globulines par le sulfate d'ammoniaque, et, d'autre part le peu de connaissance que nous avons des propriétés optiques des globulines précipitées isolément, je n'ose pas formuler une idée sur la précision que pourront nous apporter les méthodes néphélométriques dans le dosage des globulines du liquide céphalo-rachidien.

Il y a là toute une étude systématique à faire, étude déjà commencée qualitativement par les travaux de NONNE et APELT (1) et KAFKA (2).

(1) *Loc. cit.*

(2) *Munch. Med. Wochensh.*, 1915, n° 4, p. 106, in MARC RUBINSTEIN. *Traité pratique de sérologie et de sérodiagnostic* 402 pages 16 × 24 (Maloine, Paris).

CONCLUSIONS

Quand il s'agit de mettre au point une méthode néphélométrique, appliquée au dosage, en milieu trouble, du précipité d'un seul composé chimique, il est déjà nécessaire de définir avec une grande netteté les conditions dans lesquelles la précipitation et les mesures comparatives doivent être faites

Il faut par conséquent s'attendre à rencontrer certaines difficultés quand il s'agit de mesurer par voie néphélométrique des précipités obtenus avec un groupe de plusieurs composés chimiques comme cela se présente pour les albumines du sérum du sang.

1° La sérine, la globuline soluble (Vila), la globuline insoluble (Vila) précipitées par l'*acide trichloracétique* ont des propriétés optiques différentes.

Sans tenir compte des différences possibles entre les précipités des deux groupes de globulines, il se trouve que pour une solution d'acide trichloracétique contenant 30 grammes pour 100 centimètres cubes (Densité 1.146 à 19° C), les précipités d'albumine et de globuline totale sont équidiffuseurs.

De même, deux mélanges d'albumines ou deux sérums pour lesquels les rapports $\frac{\text{globuline}}{\text{sérine}}$ diffèrent, deviennent équidiffuseurs, à quelques pour cent près, quand on les précipite par cet acide trichloracétique de densité 1.146 (30 grammes pour 100 centimètre cubes).

Cette propriété fortuite autorise à pratiquer des dosages diffusimétriques d'albumine dans le sérum du sang ou dans le liquide céphalo-rachidien avec une précision d'au moins 10 pour 100.

Si on emploie un acide trichloracétique d'un titre quelconque les erreurs peuvent atteindre facilement 20 et 30 pour 100.

De bonnes conditions de précipitation sont les suivantes :

Sérum dilué à $\frac{1}{100}$ dans NaCl à 15 p. 100 (ou	
liquide céphalo-rachidien pur)	0 cmc. 5
Acide trichloracétique $D_{190} = 1.146$	9 cmc. 5

L'observation diffusimétrique est faite au cours des 10 premières minutes qui suivent le moment de la précipitation, soit par comparaison, en lumière verte, avec un verre opale diffuseur étalonné, soit par comparaison avec une solution titrée d'albumine.

2° Je n'ai pas de renseignements certains sur la possibilité d'obtenir l'équiopacité des précipités de sérine ou de globuline; au moyen de l'acide trichloracétique. Un travail complémentaire devra être fait sur ce point. L'opacimétrie pourra en tout cas être utilisée pour mettre en évidence les différences de concentration en globuline.

3° L'acide sulfosalicylique ne permet d'obtenir ni l'équidiffusion, l'équiopacité des précipités de sérine et de globuline; il se prête donc mal aux déterminations quantitatives globales d'un mélange des 2 corps.

4° Le dosage néphélométrique des globulines précipitées par le sulfate d'ammoniaque conduit à des remarques analogues : aucun dosage global quantitatif ne sera possible si les propriétés optiques étudiées dépendent des proportions relatives de globuline soluble et de globuline insoluble dans le mélange. Or, il semble bien qu'il en soit ainsi.

Toutefois, des indications utiles peuvent être obtenues en rapportant l'indice de diffusion du précipité de globulines à la teneur du sérum en albumines totales.

Des expériences sont en cours pour essayer de tirer meilleur parti des précipitations par le sulfate d'ammoniaque.

5° L'emploi d'un verre opale comme étalon de diffusion m'a permis d'étudier les variations des propriétés optiques des précipités d'albumine en fonction du temps.

6° D'un point de vue théorique, mes expériences semblent

montrer que les précipités de sérine et de globuline conservent leurs propriétés optiques particulières, distinctes, dans les mélanges aussi bien que dans les sérums naturels. Si nous rapprochons ce fait des observations analogues de Robertson sur l'indice de réfraction de ces corps, nous sommes autorisés à attribuer à chacun d'eux une constitution particulière propre; tout se passe comme s'ils étaient, les uns vis-à-vis des autres, dans une indépendance relative au sein des sérums naturels.

Vu : le Doyen,
H. ROGER

Vu : le Président,
M. GILBERT

Vu et permis d'imprimer,
Le Recteur de l'Académie de Paris,
APPELL

TABLE DES MATIÈRES

HISTORIQUE.	7
CHAPITRE I. — PRINCIPE DES MESURES. APPAREILS	12
Opacimétrie.	16
Diffusimétrie	21
Etalon de diffusion.	23
Indice de diffusion.	25
CHAPITRE II. — ÉTUDE DU DOSAGE DE L'ALBUMINE PAR LES PROCÉDÉS NÉPHÉLÉMETRIQUES	28
Albumine.	30
Réactifs de précipitation	34
Acide sulfosalicylique	34
Acide trichloracétique	34
Sulfate d'ammoniaque	38
CHAPITRE III. — EXPÉRIENCES.	40
1° Sérum du sang.	
Dosage de l'albumine totale par réfractométrie	40
Séparation des albumines	41
Etude néphélémétrique des précipités d'albumine.	42
Influence de la température.	45
Influence des électrolytes.	46
Influence de l'âge du précipité	46
Influence de la concentration de l'acide employé pour la précipi- tation.	49
Différences appréciables à l'œil nu entre les précipités de globuline et ceux de sérine.	54
Choix du taux de l'acide trichloracétique précipitant	55
Précipitation de la globuline par le sulfate d'ammoniaque.	60
2° Liquide céphalo-rachidien.	63
CONCLUSIONS.	64

~~~~~  
Imprimerie E. DESSAINT. -- Coulommiers. — 6-23.  
~~~~~